SCHAUM'S ouTlines

全美经典学习指导系列

分子和细胞生物学

〔美〕W. D. 斯坦菲尔德 J. S. 科洛麦 R. J. 卡诺 编著

姜招峰 邱蓉 吴茜 译

- 涵盖本学科所有知识点
- 所有概念均有解释
- 与普通教科书相配，或用于自学
- 566个详细疑难解答
- 配有复习题和答案！

科学出版社

麦格劳-希尔教育出版集团

(Q-1103.0101)
责任编辑：莫结胜　李军德

SCHAUM'S outlines

全球销量超越3000万的
“全美经典学习指导系列”
是您的最佳
学习伴侣！

40年来最畅销的教辅系列
全美著名高校资深教授倾力之作
国内重点高校任课教师全力推荐并担当翻译
省时高效的学习辅导，全面详细的习题解答
迄今为止国内最全面的教辅系列
覆盖大学理工科专业

全美经典学习指导系列

概率和统计	2000工程热力学习题精解	电气工程基础
统计学	工程力学	工程电磁场基础
离散数学	3000物理习题精解	数字信号处理
Mathematica使用指南	流体动力学	数字系统导论
数理金融引论	物理学基础	数字原理
机械振动	材料力学	电机与机电学
微分方程	2000离散数学习题精解	基本电路分析
统计学原理（上）	工程热力学	信号与系统
统计学原理（下）	数值分析	微生物学
微积分	量子力学	生物化学
静力学与材料力学	有机化学习题精解	生物学
有限元分析	3000化学习题精解	分子和细胞生物学
传热学	大学化学习题精解	人体解剖与生理学
近代物理学	电路	

ISBN 7-03-009808-0

9 787030 098085 >

Mc Graw Hill

ISBN 7-03-009808-0 / Q·1103
定价：32.00 元

全美经典学习指导系列

分子和细胞生物学

〔美〕W. D. 斯坦菲尔德　J. S. 科洛麦　R. J. 卡诺　编著

姜招峰　邱　蓉　吴　茜　译

科学出版社

麦格劳-希尔教育出版集团

2002

内 容 简 介

本书是“全美经典学习指导系列”之一。自 1953 年 DNA 的双螺旋结构提出以来，生物学在分子水平上飞速发展。如今，这方面的教材往往包罗万象，但如此之多的内容，对初学者而言是非常困难的。本书对分子和细胞生物学领域进行了简明的概括，为初学者进入高级分子生物学课程提供了必要的准备。本书以启发性问题的方式介绍基本内容，以对具体问题给出的答案介绍每个概念。本书力图提出重要的并令人感兴趣的问题，以及提供一些基本合理的答案。在这些令人感兴趣的问题之后是各种类型的复习题，这些复习题可用于自我测试，以此来评估对本书掌握的程度；也可使学生对这种形式的考试有所准备。

本书主要供生命科学相关专业的本科二年级及更高年级的学生学习参考，也适用于相关专业的研究生和科研人员参考使用，同时也有助于对分子和细胞生物学感兴趣但是缺少专业基础知识的人了解这一学科。

Stansfield, W. D. et al. : Schaum's Outline of Theory and Problems of Molecular and Cell Biology.
ISBN:0-07 060893-9
Copyright © 1996 by the McGraw-Hill Companies, Inc.
Authorized translation from the English language edition published by McGraw-Hill Companies, Inc.
All rights reserved.

本书中文简体字版由科学出版社和美国麦格劳-希尔教育出版集团合作出版。未经出版者书面许可，不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。
版权所有，翻印必究。

本书封面贴有 McGraw-Hill 公司防伪标签，无标签者不得销售。
图字：01－2001－1769

图书在版编目(CIP)数据

分子和细胞生物学/(美)斯坦菲尔德(Stansfield, W. D.)等编著；姜招峰等译. —北京：科学出版社，2002.3
(全美经典学习指导系列)
ISBN 7-03-009808-0

Ⅰ.分… Ⅱ.①斯… ②姜… Ⅲ.分子细胞学-分子生物学 Ⅳ.Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 073358 号

科学出版社 出版
北京东黄城根北街16号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销
*
2002 年 3 月第 一 版 开本：A4 (890×1240)
2002 年 3 月第一次印刷 印张：21 1/4
印数：1—4 000 字数：698 000

定价：32.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换〈环伟〉)

译 者 序

分子和细胞生物学是生命科学中发展最为迅速并最具广泛影响的前沿学科。

面对分子和细胞生物学信息量大、发展迅速的特点，如何使初学者既能掌握基本知识、基本理论，又能把握该学科发展的基本动向，了解新的知识和新的学说，这是一直困扰着分子和细胞生物学教材及参考书的编写者和该课程的讲授者的难点所在。

本人认为不论对编写者，还是讲授者，都应遵循这样的原则：以“事实”为主，以“发展”为辅。“事实”是指已被大量实验所证明了的生命体中的结构及功能和生命活动过程；“发展”是指这些“事实”是如何被一步一步证实的，即“事实如何发展而来”，以及这些“事实”还在哪些方面有“空白”，如何以已有的事实推测那些尚未探明的事实，即“事实如何发展而去”。在这条“过去的发展→今天的事实→明天的发展”的脉络中，重点是把“事实”用清晰简明和形象生动的语言描述清楚；其次，辅以“事实”的逐步证实过程的介绍，即从“错误→不正确→部分正确→接近正确→现在所了解的事实”，以及通过对“事实”中“空白”的推测，来介绍有关“事实”发展趋势的各种不同观点的学说。

作为分子和细胞生物学的参考书，科学出版社引进的“全美经典学习指导系列”(Schaum's Outlines)的《分子和细胞生物学》是由美国著名大学具有丰富分子和细胞生物学教学经验的教师所编写的，对分子和细胞生物学的基本事实及新的进展进行了简明扼要的介绍。

本书表述的风格独特。它通过提出“有趣的问题”来引出新的主题，其解答并不完全依赖于前述的课文内容，对一个问题的解答常会导致另一个问题的出现，这易于引导读者对疑难问题的思考，并激发研究探索的欲望。基本内容以客观描述事实为主，选择性的内容是通过实例分析来探讨的。读者可利用本书中介绍的内容，至少在一个合理的深度上理解和分析这些问题。本书主要是为学习生命科学及其相关专业的大学生而编写的，对初学分子和细胞生物学的学生和高年级学生都是有益的。对于讲授分子和细胞生物学课程的教师而言，本书亦具有实际的参考价值。

在翻译的过程中，本人由衷地折服于作者们把深奥复杂的问题叙述得如此简单准确的能力和直面疑难问题的坦诚和科学态度，并力求在译文中保持原著中“准确而朴实”的语言风格。对译文中的不妥之处，敬请读者指教(本人的 E-mail：zfjiang@163bj.com)。

姜招峰

2001 年 12 月 1 日于北京联合大学

前　言

自 1953 年 James Watson 和 Francis Crick 提出 DNA 的双螺旋结构以来，生物学在分子水平上经历了知识革命的阵痛。如今，这个领域已发展得如此庞大，以至于这方面的教材超过 800 页已是司空见惯的事情了。这些笨重的巨著试图包罗万象，但如此之多的内容，对初学者而言是非常困难的。他们如何知道哪些基本内容是初步定位所必需的呢？这本《分子和细胞生物学》就提供了这样的介绍。为了适应半学期或一学期的大学分子生物学课程的需要，本书对这个领域进行了简明的概括，为进入高级分子生物学课程提供了必要的准备。

本书以启发性问题的方式介绍基本内容，不采用段落式课文，以对具体问题给出的答案介绍每个概念。在生物学领域，这种版式首次用于“全美经典学习指导系列”的《人体解剖与生理学》(Kent M. Van De Graaff 和 R. Ward Rhees 编著，1987 年出版)，及后来的《动物学》(Nancy M. Jessop 编著，1988 年出版)。要概括任何学科，必须面对内容选择上的困难，而实际上没有一个选择结果是完全令人满意的。然而，本书的三位合作者至少从三个不同的角度对本纲要选择的内容进行了审核。我们力图提出重要的并令人感兴趣的问题，以及提供一些基本合理的答案。但是，不能认为这些问答题的答案是准确无误的了，这主要有两个原因：首先，由于试图对复杂的问题给出简明的答案，过度简化和不全面是不可避免的；其次，科学知识的更新较快，特别是在像分子生物学这样的发展迅速的领域，因此在本书付印之前，某些答案也许已经过时。

在这些令人感兴趣的问题之后是各种类型的客观题(术语、选择题和是非题等等)。这些客观题可用于自我测试，以此来评估对问答题中的术语、事实和概念掌握的程度；也可使学生对这种形式的考试有所准备。

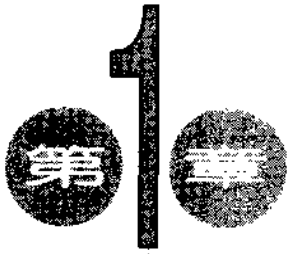
本书主要是面对大学二年级以及高年级阶段的普通学生读者。建议初学分子生物学的学生应了解一些生物科学和生物化学的基本知识，至少应了解相当于大学水平生物科学课程第一年的内容。细菌学和普通遗传学的课程将是非常有益处的。然而，没有这些预备知识，学生也会发现本书的内容极易理解，并不需要求助其他的参考材料。应按章节的数字顺序进行阅读，这是因为前一章中所介绍的大量内容和术语是理解后一章论题所必需的。

W. D. 斯坦菲尔德
J. S. 科洛麦
R. J. 卡诺

目　录

译者序
前言
第 1 章　细胞:结构、代谢和繁殖 …… (1)
导言 …… (1)
细胞组织构成 …… (1)
代谢 …… (13)
繁殖 …… (18)
第 2 章　生物大分子 …… (28)
导言 …… (28)
碳水化合物 …… (28)
脂类 …… (35)
蛋白质 …… (37)
核酸 …… (43)
第 3 章　染色体:结构、复制和重组 …… (53)
导言 …… (53)
染色体结构 …… (53)
DNA 复制 …… (60)
DNA 重组 …… (69)
第 4 章　转录与基因调控 …… (77)
导言 …… (77)
原核生物中的转录与基因调控 …… (77)
真核生物中的转录与基因调节 …… (94)
第 5 章　翻译 …… (108)
导言 …… (108)
遗传密码 …… (108)
原核生物中的翻译 …… (110)
真核生物中的翻译 …… (122)
第 6 章　突变 …… (127)
导言 …… (127)
突变类型 …… (127)
突变原因 …… (132)
突变的检测 …… (133)
染色体畸变 …… (139)
第 7 章　细菌及其病毒的遗传学 …… (145)
导言 …… (145)
噬菌体 …… (145)
基因重组和基因转移 …… (150)
第 8 章　基因工程或重组 DNA 技术 …… (164)
导言 …… (164)
基因工程 …… (165)

第 9 章　核酸操作…… (184)
导言…… (184)
核酸杂交…… (184)
聚合酶链反应…… (188)
核酸序列分析…… (194)
第 10 章　真核细胞及其病毒 …… (200)
导言…… (200)
真核细胞…… (200)
感染真核生物的病毒…… (202)
植物病毒…… (218)
第 11 章　细胞通讯 …… (225)
导言…… (225)
一般原理…… (225)
G 蛋白…… (227)
蛋白激酶与蛋白磷酸酶…… (231)
疾病和免疫中的信号转导…… (234)
信号转导与细胞周期…… (240)
细胞转化与癌…… (244)
第 12 章　多细胞有机体的发育 …… (250)
导言…… (250)
昆虫的发育(果蝇)…… (251)
哺乳动物的发育(人类和小鼠)…… (263)
两栖动物的发育(光滑爪蟾)…… (265)
鸟类的发育(家鸡)…… (269)
植物的发育…… (273)
第 13 章　免疫系统 …… (280)
导言…… (280)
免疫…… (280)
免疫细胞学…… (283)
免疫生物学…… (285)
免疫化学…… (288)
免疫遗传学…… (294)
第 14 章　分子进化 …… (305)
导言…… (305)
起源…… (305)
核糖核酸(RNA)与核糖核蛋白(RNP)的世界 …… (308)
DNA 世界 …… (315)
主要种系的进化…… (320)



细胞：结构、代谢和繁殖

导　言

细胞是展现活的生命状态全部特点的最小单位。细胞必须从某些外界物质获取能量以维持像生长、修复和繁殖这样的重要过程。在细胞中发生的维持这些功能所必需的全部理化反应构成了细胞的**新陈代谢**(metabolism)。代谢反应有**分解反应**(catabolic reaction)和**合成反应**(anabolic reaction)。分解反应可降解复杂的有机分子并释放出能量驱动合成反应；合成反应可构建(合成)细胞所需要的分子。这两类代谢反应均由**酶**(enzyme)来催化。酶是可促进特定生物化学反应进行的蛋白质分子。在反应过程中酶分子不被消耗和不发生永久性变化，并可重复使用。每一个酶(或任何其他蛋白质)的结构都由被称为**基因**(gene)的脱氧核糖核酸(DNA)分子上的片段所编码。

分子生物学(molecular biology)是在分子水平上研究细胞中全部生命过程的科学。这门科学中运用了生物化学、细胞学、遗传学、生理学、微生物学、胚胎学和生物进化等若干学科的科学规律。

本书通篇力图在任何可能的地方来介绍两类主要细胞(细菌与所有其他细胞)的异同。在本章中，介绍了这两类细胞的结构与生物学功能的关系；并且简要介绍了生命的两个基本特征——新陈代谢和繁殖的细节及其他生命过程，如：生物大分子的组成、功能及合成，遗传信息的储存和修复，基因功能的调控，细胞分化，细胞内信息传递，突变，选择和生物进化等，将在后续章节介绍。

细胞组织构成

1.1　细胞有多少种基本的结构类型？区别这些细胞类型的主要结构差别是什么？

从结构上来看，有两种基本类型的细胞：细菌和所有其他细胞(包括真菌、植物和动物)。虽然并非简单，但一般来讲，细菌细胞与其他细胞相比要小许多，且结构上相对简单一些。主要的差别是细菌的遗传物质(DNA)没有像其他类型细胞那样被**细胞核**(nucleus)(图 1-1)的双层膜结构所隔离。在地球上进化产生的第一种细胞绝大多数属于这种类型。因此，它们被称为**原核生物**(prokaryote)(其另外的一个拼写方法为：procaryote)，其确切的含义是“在有核之前”。在所有其他细胞中，DNA 分子被限制在核膜内。它们被称为**真核生物**(eukaryote)，含义为：它们“真正地成核”了。

1.2　除 DNA 和某种染色体相关蛋白质(在问题 1.3 中讨论)以外，所有的原核生物和真核生物共同拥有什么大分子聚集体？

在所有类型的细胞中，只有两种大分子聚集体结构是共有的。①所有细胞都拥有一个使细胞与其环境隔开的**脂质膜**(plasma membrane)。膜的化学特性、核酸和其他生物大分子将在第 2 章讨论。②所有细胞都有**核糖体**(ribosome)，它是由部分蛋白质分子和部分核糖核酸(RNA)分子构成。核糖体在蛋白质的合成中起作用。

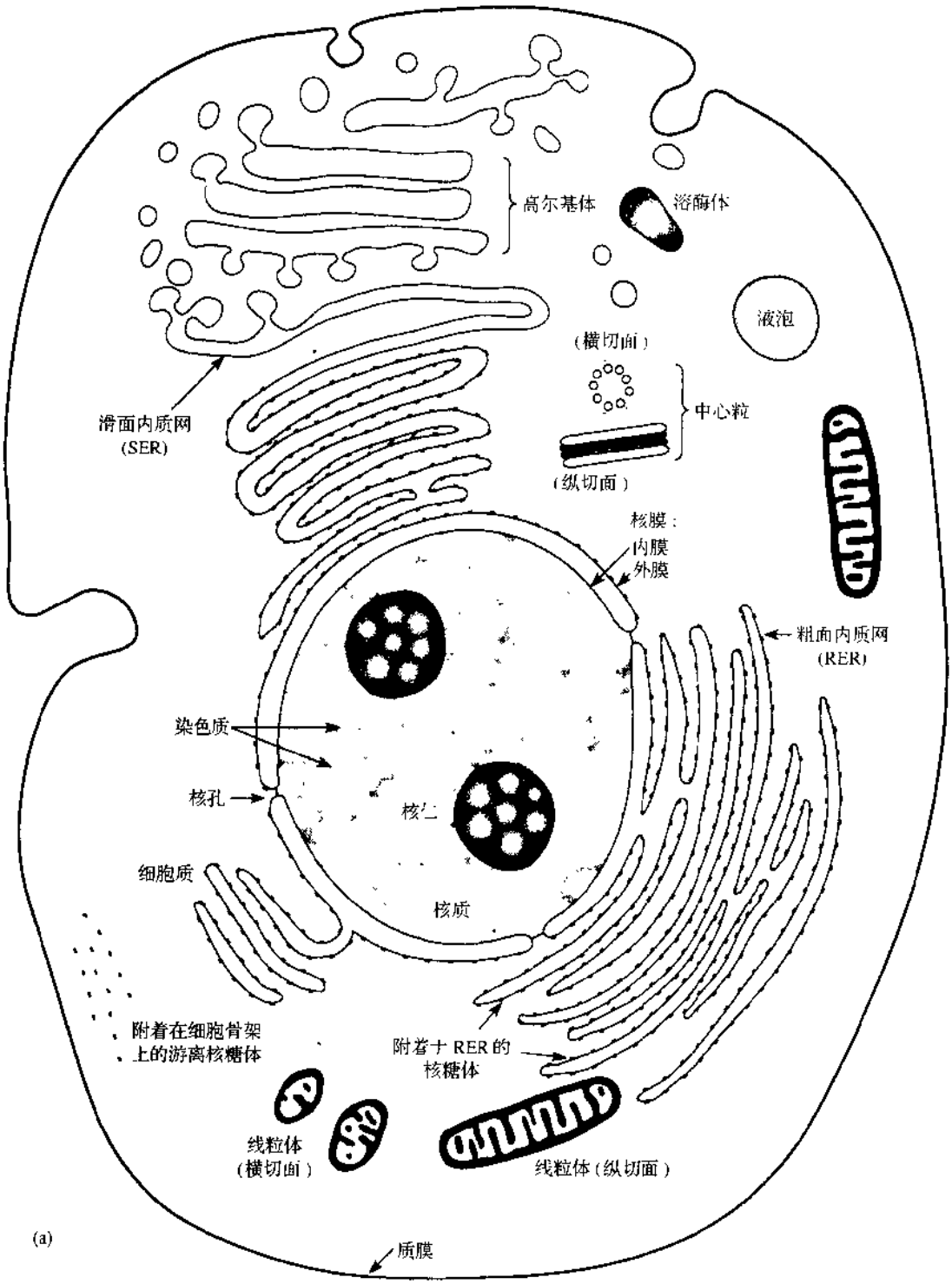


图 1－1 (a)动物细胞。(引自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991。)染色质在问题 1.3 中解释。中心粒的横截面中的九个微管融合成三联体,这与图 1－3a 的二联体类似。把此图与图 1－2a 中的细菌细胞比较。

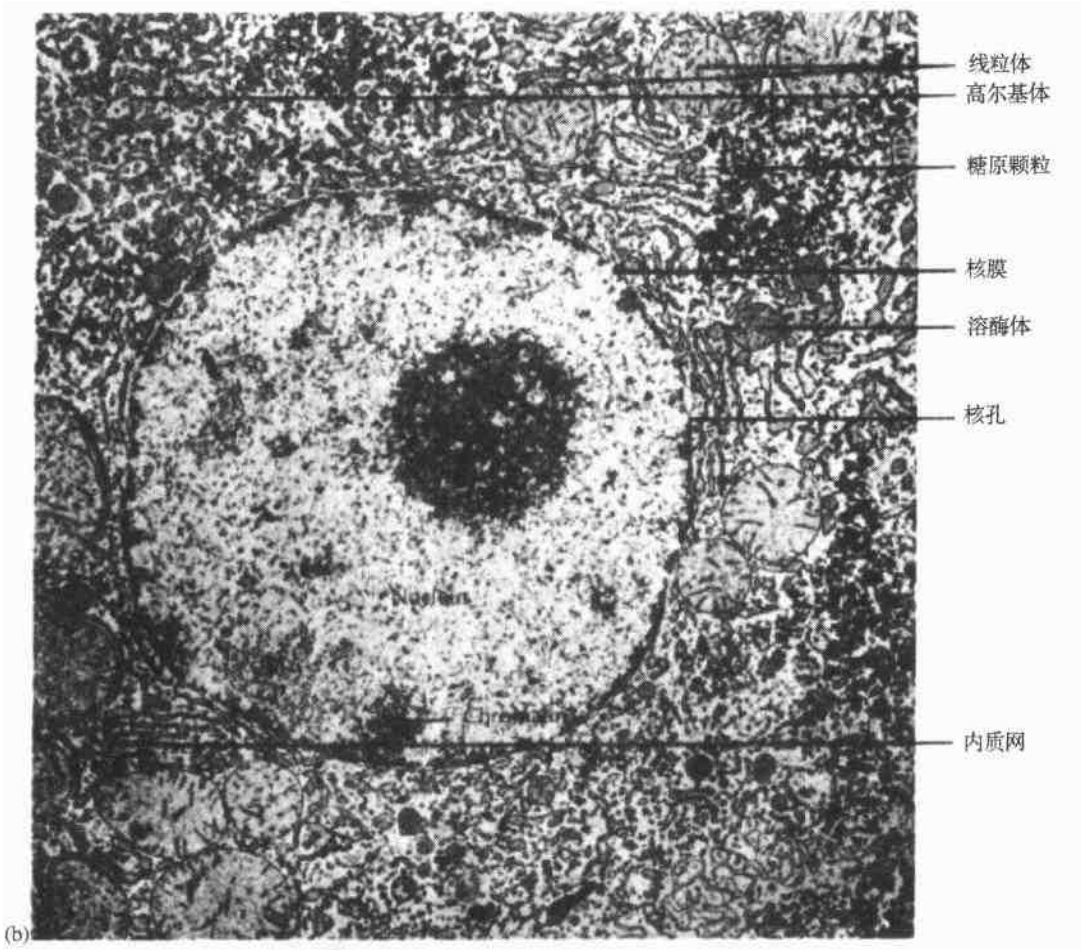


图 1-1(续)　(b)新生大鼠肝细胞电子显微图(× 11 000)。

1.3　什么是真核生物特有的结构?

真核细胞中,存在具有特定形态和功能的复杂结构,即**细胞器**(organelle)。一些教科书作者把细胞器定义为:那些能被高速离心所分离的任何亚细胞结构的实体。还有人认为,只有那些被膜包裹的亚细胞结构才能称为细胞器。

细胞核是一个细胞器,通常在被称为**染色体**(chromosome)的多拷贝线性结构中含有一整套遗传指令[称为**基因组**(genome)]。染色体由被称为**染色质**(chromatin)的**核蛋白**(nucleoprotein)构成,即核蛋白中含有核酸 DNA 和多种蛋白质[主要是被称为**组蛋白**(histone)的碱性蛋白质]。单链线性的 DNA 分子贯穿每一染色体的全长。在第 3 章中介绍了染色体的结构、复制和基因重组等细节。

在核和质膜间的胞内组分被称为**细胞质**(cytoplasm)。[在膜性细胞器外部的细胞质的液体部分称为**细胞溶胶**(cytosol)或**透明质**(hyaloplasm)。]在核旁那些双层膜的其他细胞器,如线粒体和叶绿体,位于细胞质中。**线粒体**(mitochondria,单数为 mitochondrion)含有与氧化呼吸有关的酶类。**叶绿体**(chloroplast)含有利用太阳光能的光合系统。除了极少数的例外,线粒体存在于所有真核细胞中,而叶绿体只存在于多细胞的绿色植物和单细胞藻类中。其他类型的非光合作用的**质体**(plastid),如**色质体**(chromoplast)(含有色素)和**白色体**(leucoplast)(淀粉储藏),也可以存在于一些植物细胞中。大部分的氨基酸、核酸的嘌呤和嘧啶,以及脂肪酸等的合成发生在植物细胞的质体中和动物细胞的细胞溶胶中。

胞质中某些细胞器,如核糖体和中心粒,并没有被膜包裹。**中心粒**(centriole)与细胞的极性区域有关,在细胞分裂的过程中,染色体向该区域迁移(见问题 1.9 和 1.41)。这是动物细

胞的特性，大多数植物细胞无此现象。中心粒位于被称为**中心体**(centrosome)的无定型的物质团中。中心体也没有膜。

真核细胞通常含有广泛的由膜形成的胞质迷宫，该膜系统称为**内质网**(endoplasmic reticulum，ER)。ER 把细胞内空间进一步分隔和扩大其表面积以利于发生在膜上或跨膜的特化了的生物化学反应的进行。

另外两个细胞器是高尔基体和液泡。高尔基体在问题 1.16 中讨论。液泡是下面问题的内容。

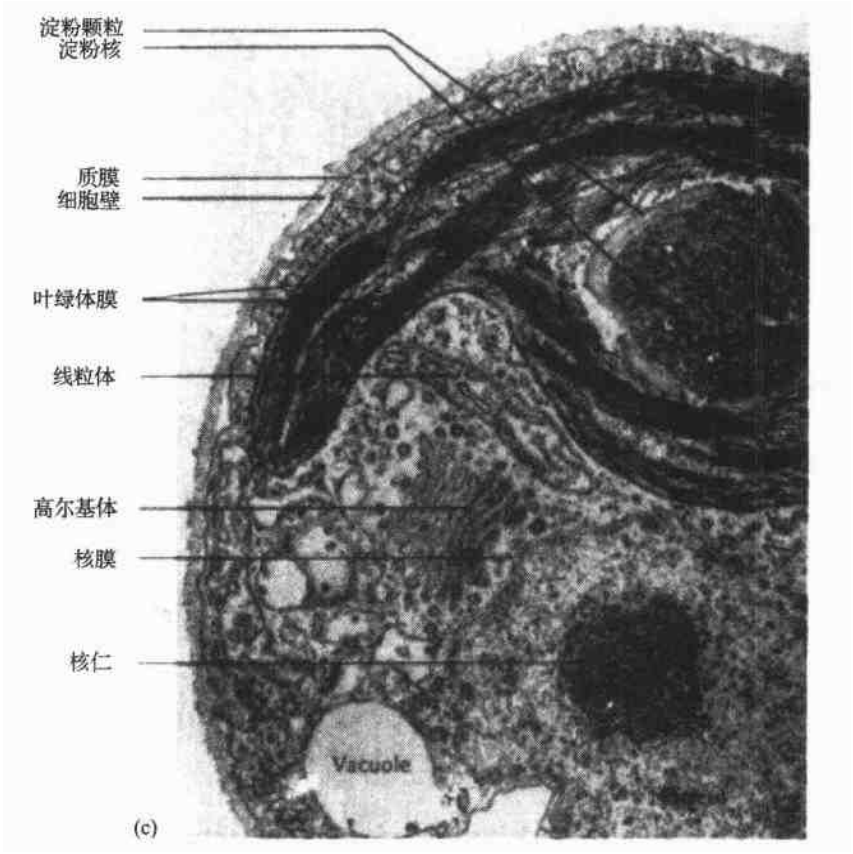


图 1－1(续) (c)藻类(*Chlamydomonas reinhardi*)电子显微图(×30 000)。淀粉核是与某种藻类叶绿体有关的蛋白质区域，它也许是形成碳水化合物存储形式的场所。(图 1－1b 和 1－1c由加利福尼亚大学圣迭戈分校的 G. E. Palade 无偿提供。)

1.4 有膜液泡存在于许多真核细胞中。这些液泡的功能是什么?

细胞核，线粒体和叶绿体均被双层膜包裹，然而，作为储藏室的液泡却只有单层的膜，该膜称为**液泡膜**(tonoplast)。液泡的大小不一。细胞内主要运输大分子的较小的液泡常被称为**囊泡**(vesicle)。液泡来源于那些从高尔基复合体形成的较小的囊泡的进一步融合。几种类型的液泡存在于各种各样的真核细胞中。

当某些原生动物(单细胞动物，如阿米巴原虫)吞食细菌或食物碎屑时在它们体内就可形成**食物液泡**(food vacuole)。含有消化酶的前体的**溶酶体**(lysosome)存在于某些动物细胞的细胞质中，但不能把溶酶体归为液泡。当一个食物液泡与一个溶酶体融合，前体酶被活化并消化溶酶体内的食物。

当水中溶解的物质(溶质)在一个选择性通透的膜两面存在浓度差时，与此相应，水(溶剂)就可移动通过此膜，此为**渗透**(osmosis)。许多植物细胞含有一个或多个**液泡**(water vacuole)。由于这些细胞器中的胶体的浓度相当的高，因此它可吸收和储存水。水进入这些液泡内产生的静水压(膨胀)挤压其余的细胞组分并使质膜靠紧刚性的细胞壁，这就使植物组织变

得饱满。干旱失水植物将枯萎,若失水进一步发展植物将死亡。某些原生动物可含有特化了的水液泡,即**收缩泡**(contractile vacuole)。它能把多余的水泵出细胞,以此保护细胞免于因内部的渗透压引起的像一个过度充气的气球那样爆裂。

1.5 除了质膜以外,原核细胞没有其他脂膜吗?

多数细菌缺乏内部的膜组分。然而,光合细菌常含有广泛的源自质膜凹陷的内部膜组分。在某些例子中,光合作用囊泡似乎是从质膜上掐下来形成的膜包裹的囊泡。人们认为至少某些细菌含有一个或多个这样的质膜凹陷,且细菌的 DNA 附着于此。这些膜组分被称为**间体**(mesosome)。然而,细菌却不含有像真核细胞中含有的被双层膜所包裹的那样的细胞器。

1.6 在各种类型细胞中的 DNA 分子,或大或小,或线状或环状,或常有或没有组蛋白结合,或含有必需或不必需的信息,每个细胞中存在的拷贝数或高或低。以这些原则为基础,可把原核生物 DNA 分为两大类,并可揭示它们在细菌细胞中的位置。

细菌必要的遗传信息存在于被称为**基因带**(genophore)或基因组的一个环状的 DNA 分子中。依其物种,它一般编码 3000~5000 个基因。基因带可被不严格地称为"**染色体**"。在细胞准备分裂的过程中,基因带的拷贝被复制;因而,至少有两个拷贝一过性的存在,因每个拷贝占据细胞体积的 15%~25%,通常拷贝数不会超过四个。细菌细胞中被基因带占据的区域称为**类核**(nucleoid)。类核与质膜间的区域常被称为"细胞质"。

某些细菌含有一个或多个(多至每细胞 50 个)相当小(含有一个至数百个基因)的被称为**质粒**(plasmid)的环状 DNA 分子(图 1-2)。在多数的环境条件下,质粒所携带的基因通常不是必需的。然而,在像青霉素那样的抗生素存在时,质粒所携带的抗抗生素基因对于其生存则是必需的。质粒通常随机地分布在细胞质中。

细菌的基因带或质粒没有组蛋白结合,但是,至少在某些种属的细菌中其他类型的蛋白质代替了组蛋白。

1.7 真核细胞和原核细胞中的核糖体有什么不同?

所有细胞都含有核糖体结构。它没有膜包裹,但是,它可以与膜结合。核糖体参与蛋白质的制造。细菌的核糖体比散在真核细胞细胞溶胶中的核糖体要小些。但是,存在于线粒体和叶绿体中的核糖体与细菌核糖体的大小相近。核糖体的相似之处可作为一个证据来支持线粒体和叶绿体是从原核细胞进化而来的学说(第 14 章)。

真核细胞核糖体与内质网关系密切,在电子显微图上它使这些膜呈现颗粒状外观,因此,这样的内质网被称为**粗面内质网**(rough endoplasmic reticulum,RER)。内质网上没有核糖体的部分被称为**滑面内质网**(smooth endoplasmic reticulum,SER)。线粒体和叶绿体含有自己的小环状的细菌样 DNA 分子和细菌样核糖体,用以制造某些线粒体和叶绿体蛋白质,以及合成这些细胞器中的全部核酸分子(rRNA、mRNA 和 tRNA)。那些起作用的而不被这些细胞器 DNA 所编码的蛋白质由核 DNA 编码,并在细胞质核糖体上合成后转运至线粒体和叶绿体的内部。一般认为,线粒体和叶绿体以二均分裂的方式进行繁殖,这与细菌的增殖方式极为相像。

1.8 与真核细胞相比,细菌是如何运动的?

对于具体的真核细胞或多细胞有机体在新的栖息地中的散布,运动性应是一个重要的属性。对于某种胚胎细胞在其增殖和分化成特殊的组织之前,运动性也是必需的。某些单细胞真核生物——原生动物如阿米巴原虫——以不断改变形态的波动物团的方式沿基面爬行。我们体内的抵御细菌或其他外来细胞的某些白细胞具有与此相同的变形移动方式。在典型的真核细胞质中存在着叫做**细胞骨架**(cytoskeleton)的广泛的蛋白纤维网络,它在变形运动中起着

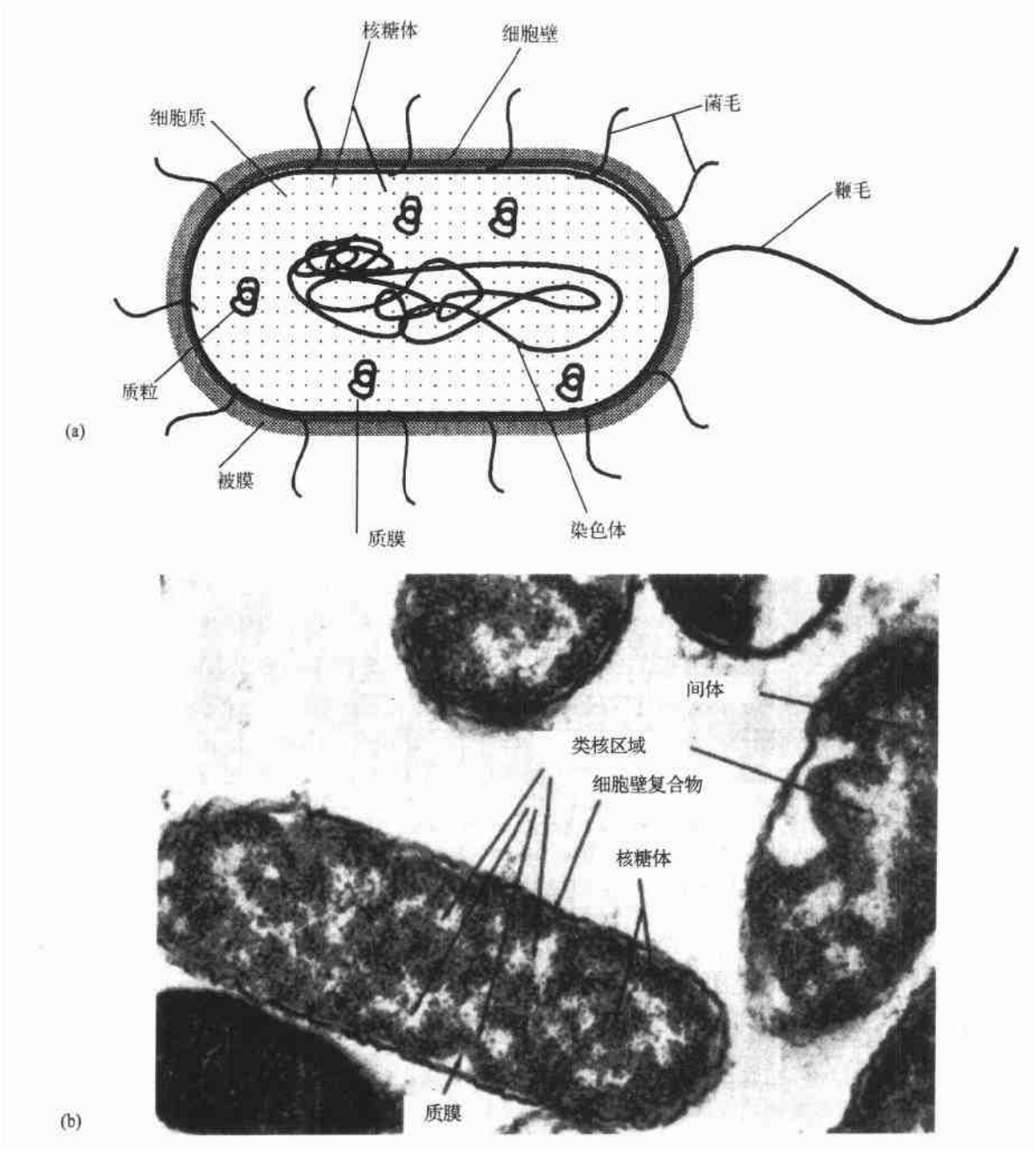


图 1-2　(a)细菌细胞。图示用透射电镜观察到的细菌中一些最常见的结构。只有部分细菌拥有全部被示以文字的结构;(b)原核细胞的电子显微图——大肠杆菌。(由耶鲁大学医学院的 J. D. Jamieson 无偿提供。)

重要作用。细胞骨架还有其他功能。它的一部分构成了质膜的基础使其稳固,并维持真核细胞的外形。肌动蛋白纤维、微管和中等纤维是细胞骨架蛋白结构的一部分。肌动蛋白和肌球蛋白在肌细胞的收缩过程中起重要的作用。多数细菌、植物和真菌细胞被坚硬的细胞壁所包裹,这就限制了其变形运动。细菌没有与细胞骨架相应的结构,因而,即使它没有细胞壁,它也不能做变形运动。事实上多数细菌是不能运动的。那些能运动的细菌通常是被一个或多个像头发样的附属肢体所驱动的。该附属肢体称为**鞭毛**(flagella,单数为 flagellum),它起源于质膜并可像螺旋桨那样转动。这些细丝由鞭毛蛋白构成。某些真核细胞具有的由质膜形成的细长的伸展部分也称为鞭毛,但是,它们是由被称为**微管蛋白**(tubulin)(α 和 β)的其他蛋白质所构成的微管集束而组成的。真核细胞的鞭毛(如精子尾部)以准正弦波的方式前后弯曲。真核细胞的**纤毛**(cilia,单数为 cilium)在结构上类似于鞭毛,但是,更短、更多、更硬。纤毛也像鞭毛那样前后摆动,且通常如波浪般协调一致。

1.9　除了由不同的蛋白质构成以外,真核细胞与细菌的鞭毛有何不同?

与细菌鞭毛不同,真核细胞鞭毛的形成不是来源于质膜,而是源自细胞质中的**基体**(basal body 或 kinetosome)。每一真核细胞的鞭毛由微管束组成。这些两个一组的九组微管围绕着一对中心微管进行排列(图1-3)。基体由三个一组的九组微管围绕着一个没有微管的中心

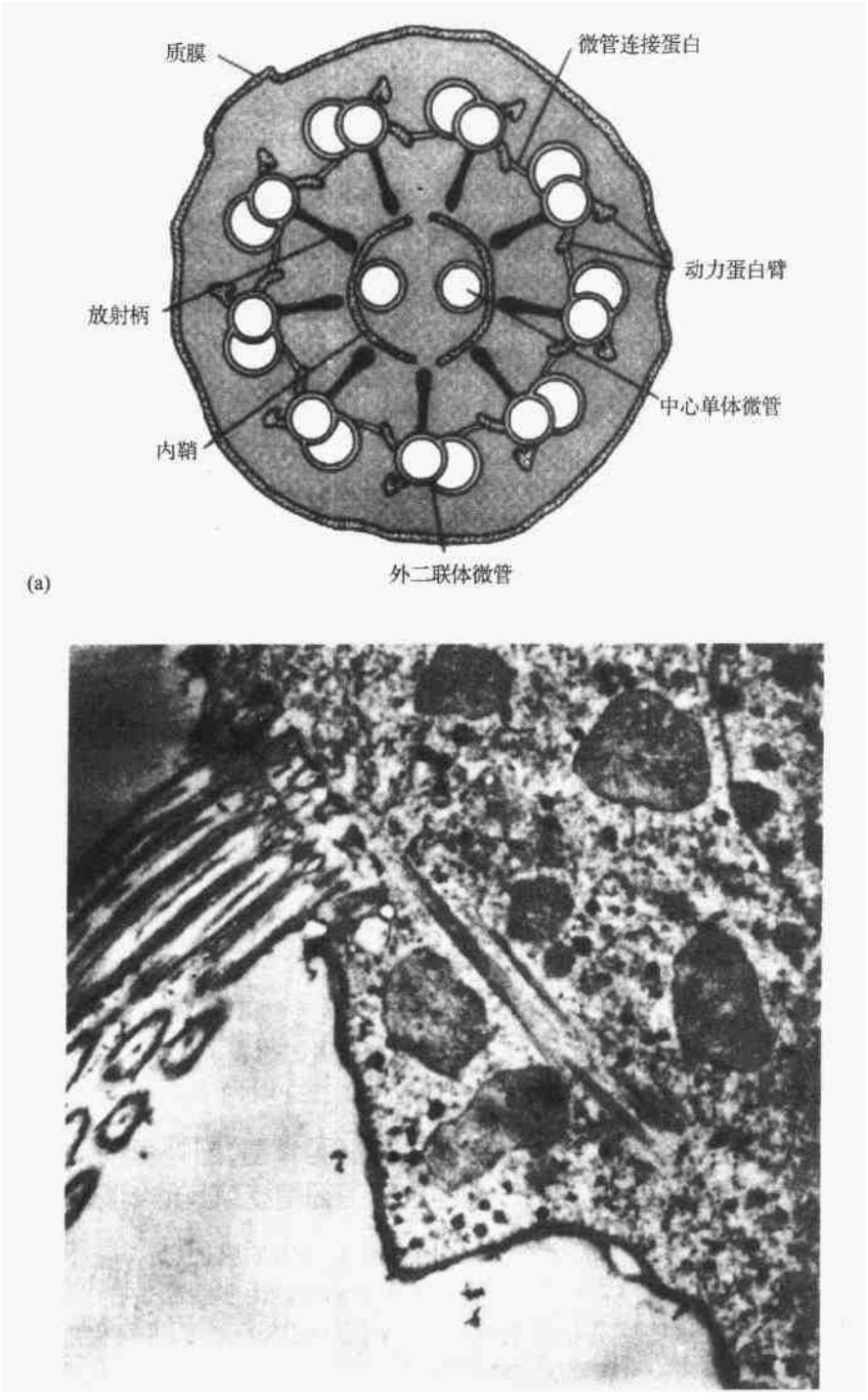


图 1-3　(a)纤毛和鞭毛的横截面。每一结构有九个微管对排成环状围绕着一对单体的微管,并与有助于这些结构运动的数种其他蛋白质(如微管连接蛋白和动力蛋白)组合在一起。(经允许摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Biochemistry, P. W. Kuchel, G. B. Ralston, et al., McGraw-Hill, 1988。)(b)原生动物 Euplotes patella 纤毛和基体切片的电子显微图。[由 I. E. Roth 博士无偿提供,Experimental Cell Research (Sup. 5), 573~585, 1958。]

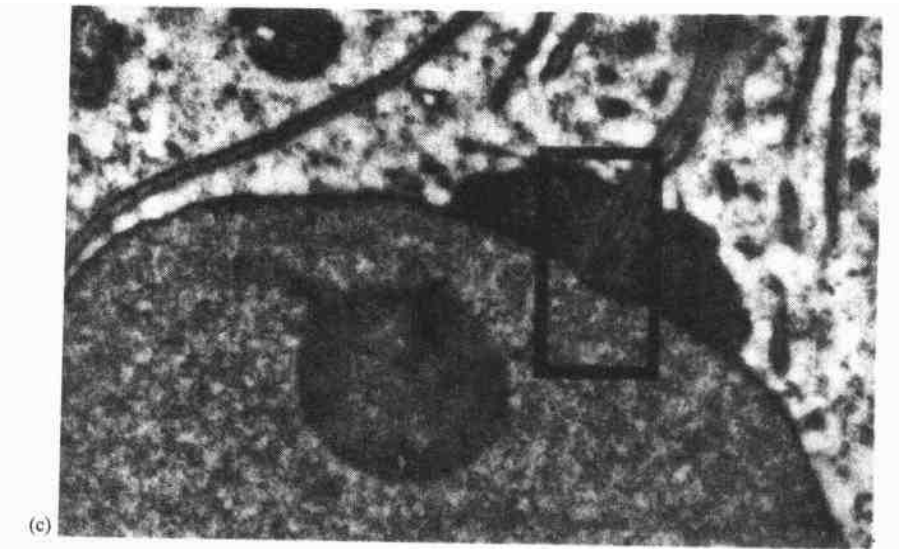


图 1-3(续)　(c)蚱蜢成熟过程中的精细胞电子显微图。尾丝正在核边缘的一个中心体中形成(长方框部分)。(引自 A Scope Monograph on Cytology, 1965, The Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan;由 T. N. Tahmisian 博士, R. L. Devine 硕士无偿提供。)

核排列构成。中心粒——存在于中心体中并与细胞分裂有关——与基体有着相同的基本结构(并且,它们确可相互转换)。一般认为:纤毛和鞭毛运动的分子基础是微管以类似于肌细胞收缩过程中肌动蛋白和肌球蛋白的行为方式进行的相互滑动。一个名为**动力蛋白**(dynein)的蛋白质复合物以分子内循环往复的构象变化来驱动真核细胞鞭毛的滑动装置。动力蛋白还具有裂解(通过水解作用)高能分子**三磷酸腺苷**(adenosine triphosphate, ATP)的 ATP 酶的活性。因此,它能获取驱动真核细胞鞭毛和纤毛所需的能量。

另外,像螺旋桨样转动的真核细胞鞭毛也可由氢离子(H^+)或钠离子(Na^+)的跨质膜运动所驱动。把这些离子聚集在膜的一侧需消耗能量(如 ATP 的水解),这很可能与**主动转运**(active transport)有关。如此,离子浓度梯度形成了电压能,该能量可通过打开膜上的离子通道使膜电位去极化;并允许离子向低离子浓度区域扩散,这是一个被称为**被动转运**(passive transport)的过程。

1.10　除了鞭毛细菌还有什么其他的附属肢体?

某些细菌具有长的中空管状的由菌毛蛋白构成的**菌毛**(pili,单数为 pilus;或 fimbriae,单数为 fimbria)。这些结构对运动没有贡献,而有助于细菌的附着。菌毛中的一类,**性菌毛**,与不同交配型的细胞结合,并有利于从供体细胞到受体细胞的 DNA 的接合转移(见第 7 章)。

1.11　植物与动物细胞的主要差别之一是植物(和真菌)细胞有细胞壁,而动物细胞则没有细胞壁。在质膜外,细菌是否有细胞壁或其他细胞外结构?

几乎所有的细菌(支原体除外)都有坚硬的细胞壁包绕着质膜,但是,其结构与化学组成与真核细胞壁不同(见第 2 章)。某些细菌含有包裹着细胞壁的由多肽或多糖构成的黏液质的或胶样的**荚膜**(capsule)。这些荚膜可保护细菌免遭捕食性细胞的侵袭,并可促进细胞之间和细胞与其他多种物质的吸附。由缠绕的多糖纤维构成的**糖萼**(glycocalyx)可从某些细菌细胞表面突出伸展,并具有荚膜同样的功能。多数真核细胞也有覆盖在细胞表面的糖萼,它在特殊组织形成过程中可促进细胞的黏附。在这种凝聚体周围,某个系列或某一类群的细菌可分泌一种硬的多糖鞘作为一个额外的保护层。

1.12　线粒体的结构与功能。

除了极罕见的例外,所有的真核细胞都含有名为线粒体的被膜包裹的细胞器(图 1-4),

其中含有与电子和质子(氢离子)运输以及 ATP 合成有关的酶类。因 ATP 是细胞内能量转换的主要的流通载体，所以，线粒体被称为细胞的“能量工厂”。线粒体有两层膜。外膜含有名为**孔蛋白**(porin)的蛋白质，它允许相对分子质量高达 10 000 的大分子通过。内膜的通透性较差。内膜向**基质**(matrix)内或中心空间突出并内折形成**嵴**(cristae)。这些嵴增加了依赖于跨嵴质子梯度形成而进行反应的表面积，并且，这些嵴是呼吸酶作用及 ATP 产生的场所。与细

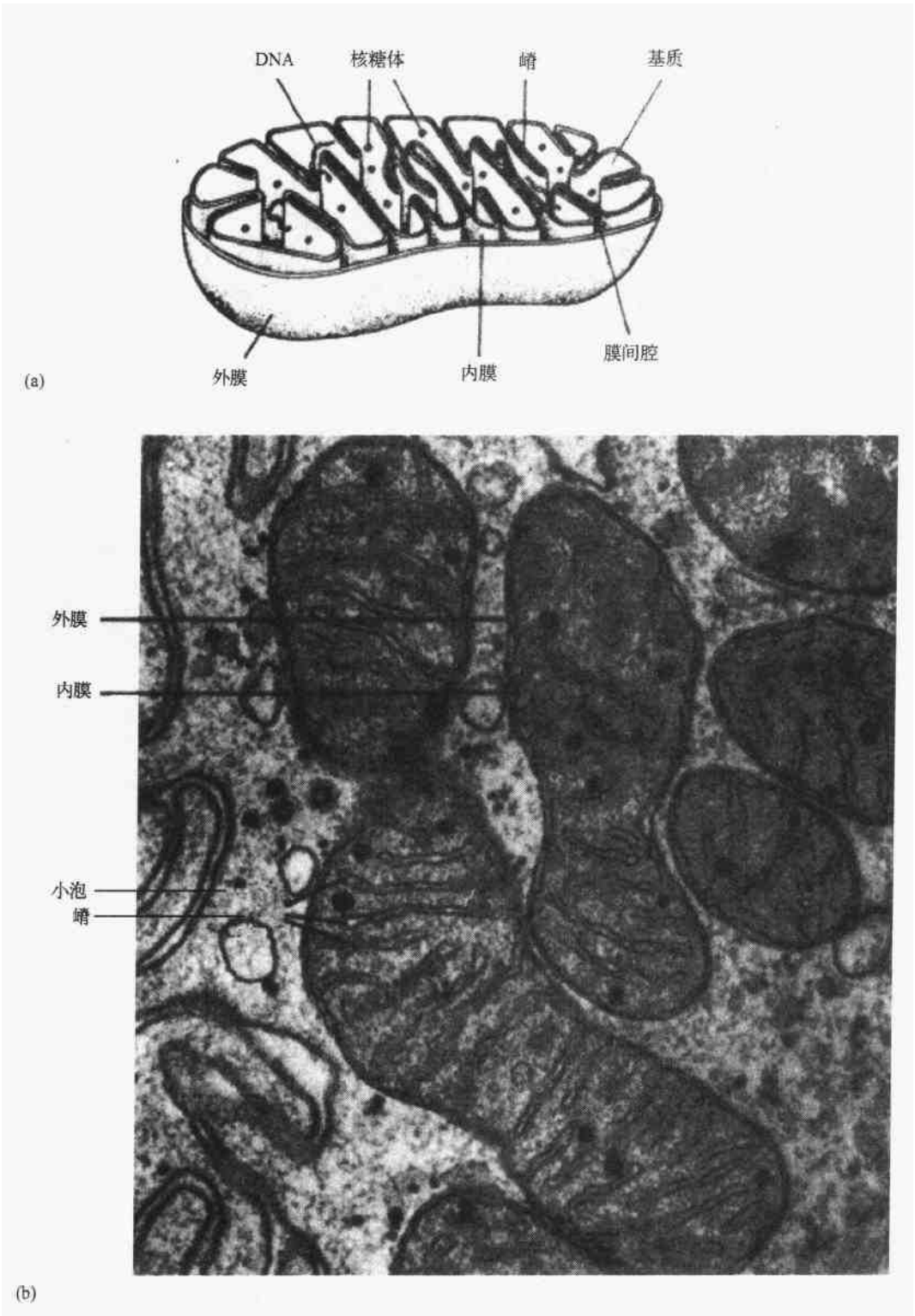


图 1－4　(a)线粒体图，示内膜凹陷(称为嵴)，多拷贝 DNA 基因带和核糖体。(经允许选自 Microbiology，R. J. Cano 和 J. S. Colome，West Publishing Company，1989。)(b)胰腺腺泡细胞中的线粒体电子显微图(×70 000)。(由加利福尼亚大学圣迭戈分校 G. E. Palade 无偿提供。)

菌不同，真核细胞呼吸酶类与质膜无关。（与真核细胞线粒体不同，原核细胞的呼吸酶类并没有内膜将其隔离。）线粒体含有与细菌基因带相似的多拷贝环状 DNA 分子，它也含有细菌样的核糖体，以此来生产某些由线粒体 DNA 所编码的自身蛋白质。

1.13 什么是光合作用，及其在细胞中的什么场所进行？

光合作用是把光能转化成 ATP 化学键能的过程；进而，ATP 可被用来把二氧化碳（CO_2）和水（H_2O）转化成碳水化合物（如糖和淀粉）。这主要发生在多细胞绿色植物、单细胞藻类和蓝藻细菌中。在真核生物中，这个过程被限制在名为叶绿体的膜包裹的细胞器中。在蓝藻细菌中，光合作用发生在由质膜凹陷形成的扁平囊（类囊体）中。

1.14 叶绿体的结构

线粒体和叶绿体均被内膜和外膜所包裹，但是，叶绿体还含有一个名为**类囊体**（thylakoid）的额外的内部的膜系统（图 1-5）。叶绿体含有细菌样的环状的染色体，以及合成叶绿体 DNA 所规定的蛋白质的细菌样的核糖体。一般认为，叶绿体以二分分裂的方式进行增殖，但是，由于核基因对于这个过程是必需的，在细胞外，它们并不如此。另外的事实是，线粒体和叶绿体在细胞中通常没有固定的位置，它们依细胞骨架的活动而被迁移。

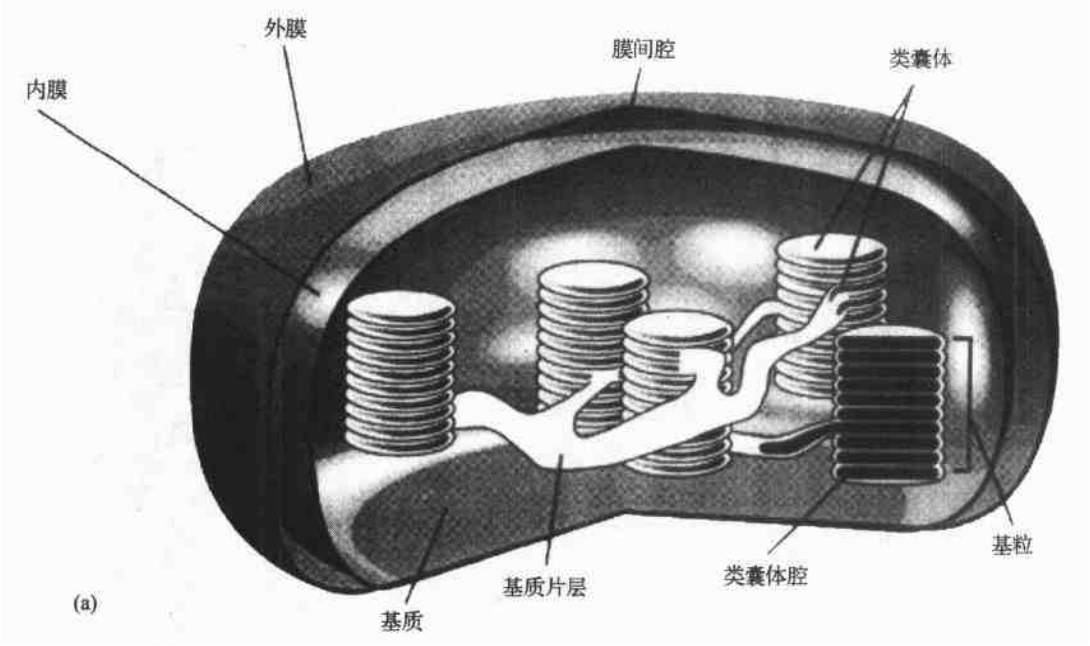


图 1-5 (a)叶绿体图。图中没有显示基质中存在的多拷贝 DNA 分子和核糖体。

扁平的囊状的类囊体含有叶绿素、酶和其他光合作用合成 ATP 所需的分子。在某些叶绿体中，盘状的类囊体像硬币那样叠在一起形成**基粒**（grana，单数为 granum）。叶绿体中在类囊体和叶绿体内膜间的部分为基质。在这个空间里可进行 CO_2 和碳的固定（从无机 CO_2 向有机糖的转化）。

1.15 从每个细胞中细胞器的数量，每个细胞器中 DNA 分子的数量以及它们各自的 DNA 分子的大小，来比较线粒体和叶绿体。

依其物种不同及同物种不同的组织，每个细胞线粒体和叶绿体的数量变化很大。

☞ 例 1.1

单细胞藻类的衣藻只含有一个杯形的叶绿体，而开花植物的一个叶细胞含有 50 多个卵形

的叶绿体。线粒体和细胞体积的比例与细胞的氧化代谢率直接相关。多数真核细胞含有几百个细长(常为香肠形状的)线粒体。

除了某些藻类和原生动物的非环状线粒体基因组以外，所有的线粒体基因组均由一个环状的双链的 DNA 分子构成。所有的叶绿体和线粒体常含有其基因组的多个拷贝。这些基因组位于叶绿体和线粒体的基质中。

例 1.2

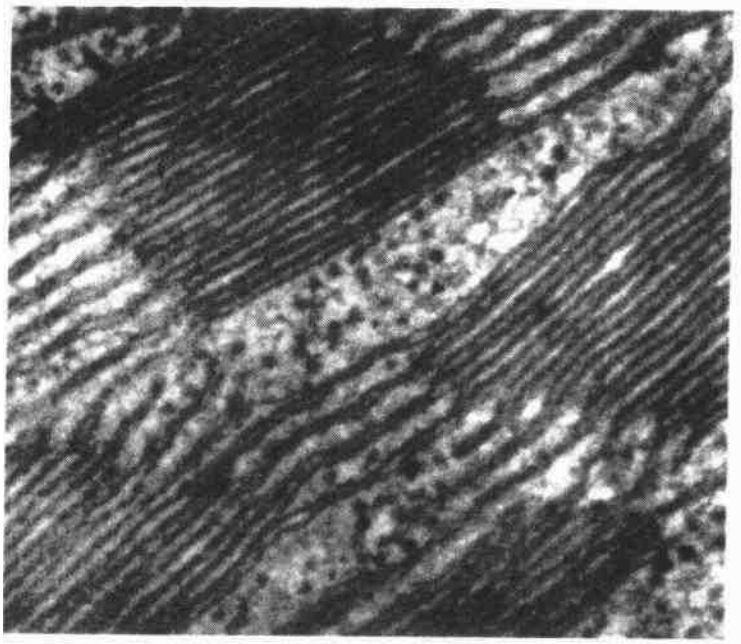
在这些细胞器中 DNA 分子的数量没有太多不同。玉米的每个叶绿体中约有 20～40 个 DNA 分子。四足的脊椎动物每个线粒体中一般含有 5～10 个 DNA 分子。

(b)

图 1-5(续)　(b)部分叶肉细胞的叶绿体的纵剖面电子显微图。紧密压在一起的片状区域，即基粒，是质体含有叶绿素的部位。

DNA 亚单位(称为**碱基对**)的数量常被用来表示一个 DNA 分子的大小(长度)。多数植物**叶绿体** DNA(ctDNA)分子(2×10^5 bp)约比典型的细菌基因组小 10～20 倍(如肠内细菌大肠杆菌基因组为 4×10^6 bp)，但是，ctDNA 要比许多动物**线粒体**基因组(mtDNA)(2×10^4 bp)大 10 倍左右。

植物中叶绿体基因组的大小变化不大。同样，在不同种的动物中，线粒体基因组大小的变化也较小。然而，维管植物线粒体基因组更大且更富于变化，它可以比多数动物的线粒体基因组大 10～125 倍。植物 mtDNA 表观复杂程度在某种程度上依赖于产生与完整的"主"基因组同时存在于相同线粒体中的亚基因组环状分子的重组事件。



(c)

图 1－5(续)　(c)比图 1－5b 放大倍数更高的电子显微图，清楚地显示基粒被叠在一起。基粒叠片的可变的不透明性可能由脂质、蛋白质和叶绿素等大分子组合结构所形成。

1.16　在真核细胞中合成的某些蛋白质可被运输到特定的位置。蛋白质如何准确地寻找目标？

在真核细胞中，细胞质中的膜系统担任这种复杂的工作：修饰特殊的蛋白质[如加上一个或多个糖，即**糖基化**(glycosylation)过程]，为了特定的目的地对它们进行标记，以及为了在细胞内运输和为了从细胞释放出去向质膜运输而把它们包裹进囊泡。在蛋白质上的某些碳水化合物标记可指引它们通过**高尔基复合体**[(Golgi complex)(也称为高尔基器或高尔基体；在植物中也称为**分散高尔基体**或**网体**(dictyosome)；图 1－1)]和(或)到它们的目标细胞器。高尔基复合体由紧密叠在一起的扁平的膜状囊[**潴泡**(cisternae)]和小的圆形的囊泡构成。它的功能是聚集、隔离、修饰以及为刚刚在内质网中合成的蛋白质和脂质指引目的地。从细胞分泌许多蛋白质并被装入分泌囊泡的过程也发生在高尔基复合体中。在与粗面内质网(RER)相连的核糖体上合成的蛋白质可直接进入内质网腔。虽然内质网的膜与核膜相连，但是，进入内质网腔的蛋白质并不扩散进入细胞核。以细胞膜为目的地的蛋白质通常在高尔基复合体中被装入脂质囊泡。进而，这些囊泡被细胞骨架纤维运输到质膜。在那里两个膜发生融合。如果这些蛋白质在囊泡中是游离的，它们就被释放到细胞外[**胞吐作用**(excytosis)]。这个过程反转[**胞吞作用**(endocytosis)]，可以把细胞外的物质带入细胞内的食物液泡。含有消化酶的囊泡(溶酶体)可被细胞骨架运至食物液泡。两个囊泡的融合可形成吞噬溶酶体，在其中，外来组分被消化。

细菌不含高尔基体，且很少有细菌含有使蛋白质糖基化的酶。分泌到细菌细胞外的蛋白质通常是在质膜上的核糖体上合成，并且，它们可以挤出细胞膜。

代　谢

1.17　细胞利用哪两类主要的碳源来合成它们自己的有机分子?

细胞可利用的两类主要的碳源是:①复杂的有机化合物,如糖和氨基酸;②单碳化合物,如二氧化碳(CO_2)或甲烷(CH_4)。

1.18　以其利用的碳源,把细胞划分为两类最广泛的类型。

利用 CO_2 作为其惟一碳源的细胞是**自养生物**(autotroph)。与此相应,需要复杂有机化合物(通常来自其他生命形式,活的或死的)的细胞是异养生物(heterotroph)。

1.19　细胞能从光或化学化合物获得能量。基于其利用的能源,把细胞分为两类。

从光获得其能量的有机体称为**光养生物**(phtotroph),而从化学化合物获得其能量的有机体称为**化能营养生物**(chemotroph)。

1.20　若把能量和碳源共同考虑,大多数有机体可归为四种类型中的一种:光合自养生物,光合异养生物,化能自养生物和化能异养生物。至此讨论两种自养细胞。

化能自养(chemoautotrophic)细胞氧化那些被还原的无机分子,如 H_2S、S、NH_3、H_2、Fe 。由此获得的能量和电子被用于还原 CO_2,如此可为合成细胞自己的有机分子提供碳骨架,并可为需能[**吸能**(endergonic)]的反应提供驱动力。只有少数现有的(尚存的)细菌家族靠化能自养方式生存。

现在生命自养方式最大的群体包括**光能自养**(photoautotrophic)植物、藻类和蓝藻细菌。这些有机体能把太阳光的能量转化成化学键中的能量。它们从空气中获得无机 CO_2 以及从土壤和水环境中获得水和矿物质,并通过光合作用以 CO_2 来制造有机化合物(固碳作用)。

1.21　以什么为基础来区分两类异养生物细胞?

有一些光合有机体(如紫硫磺细菌)是以 CO_2 以外的化合物作为碳源。被**光合异养生物**(photoheterotroph)利用的绝大多数有机物质是从死的有机体获得的。

绝大多数物种(包括动物、真菌和大多数细菌)是**化能异养生物**(chemoheterotroph),因而,它们需要以有机化合物作为碳的来源。在特殊的环境下,有一些有机体可归为上述分类中的多种类型中。例如,在缺乏阳光的情况下,许多光合藻类可具有化能异养生物的功能。

1.22　对于化能异养生物,有两种类型的呼吸作用:需氧和厌氧。呼吸的定义及其呼吸的必要条件来划分的三类化能异养生物。

呼吸作用(respiration)涉及到有机和无机分子的氧化作用和通过电子传递系统传递电子对(和氢离子或质子)而引起的高能分子(如 ATP)的生成,以及这些电子向无机电子受体的传送。当末端电子受体是分子氧时称为**需氧呼吸**(aerobic respiration);当末端电子受体不是氧而是其他无机分子(如硫酸盐或硝酸盐)时称为**厌氧呼吸**(anaerobic respiration)。

某些以有机分子和无机分子为其末端电子受体的**绝对(专一性)厌氧**[strict (obligate) anaerobic]微生物,在有氧存在的环境中不能生存。肉毒杆菌是专一性的厌氧菌,它可产生致命的引起"食物中毒"的毒素,即人们熟知的肉毒毒素。

兼性厌氧菌(facultative anaerobe)能利用氧或有机分子作为末端电子受体。例如,酵母在氧的存在下可通过代谢葡萄糖生成 CO_2 和 H_2O,然而,在氧不存在时,它可生成 CO_2 和一个还原

的有机分子(如乙醇)。

多数动物(除了一小部分单细胞的原生动物)是**专一性需氧生物**(obligate aerobe),也就是说它们在缺氧的环境中不能生存。

1.23 腺苷三磷酸(ATP)在生物能学中是一个关键分子,细胞可从两个途径合成它。

ATP 可通过底物水平磷酸化和氧化磷酸化由腺苷二磷酸(ADP)生成。**底物水平磷酸化**(substrate-level phosphorylation)是由酶介导的一个磷酸基团从一个已被磷酸化的有机分子(如二磷酸甘油酸)向 ADP 转移来合成 ATP 的过程。这个过程不需氧。

当分子被氧化,由电子通过电子传递系统传递而产生能量,而产生的大部分能量被用于腺苷二磷酸(ADP)的磷酸化来生产 **ATP**,这个过程称为**氧化磷酸化**(oxidative phosphorylation)。一个分子或原子失去电子称为**被氧化**(oxidized),而当它得到电子称为**被还原**(reduced)。辅酶(图 14-4),如黄素腺嘌呤二核苷酸(**FAD**)和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(**NAD**)起到电子传递载体的作用,它们与名为**细胞色素**(cytochrome)的含铁蛋白共同构成了**电子传递链**(electron transport chain)。在一系列偶联的氧化还原反应沿着膜上的运载分子传递来自氢原子的电子。在线粒体电子级联三个氧化还原步骤中,每一个步骤的大部分能差被用于合成 ATP;其余以热的形式释放。氧是氢离子和电子的最终受体;水是这个电子级联的副产品。

光合磷酸化(photophosphorylation)也可通过氧化磷酸化合成 ATP,但是,其所使用的能量是来自太阳光而不是有机分子的降解。该过程的内容见问题 1.30 和 1.31。

1.24 什么是糖酵解?

糖酵解(glycolysis;也称为 **Embden-Meyerhof 途径**;图 1-6)是所有细胞中最普遍的过程。在糖酵解中,在厌氧的条件下六碳的葡萄糖在细胞溶胶中通过一系列酶促催化步骤被转化成两个分子的含三个碳原子的化合物,即丙酮酸。在糖酵解的开始阶段消耗两分子 ATP,而在后续阶段通过底物水平磷酸化可产生另外四分子 ATP。因此,通过糖酵解每分子葡萄糖净生成两分子 ATP。分解葡萄糖的其他途径(如戊糖磷酸旁路)也是存在的,但本书不作讨论。

1.25 什么是发酵?

发酵(fermentation)是发生在细胞溶胶中的不依赖分子氧(它利用有机分子作为其终末电子受体)的过程。像释放二氧化碳和分子氢(气体)那样,发酵可释放出一些有机分子(如乳酸、甲酸、乙酸、琥珀酸、丁酸或丙酸等有机酸类和乙醇、丁醇或丙醇等醇类)和无机分子。在糖酵解中,一分子的葡萄糖被转化成两分子的丙酮酸。每一发酵途径起始于丙酮酸并可产生一类或两类上述的终产物,而既不消耗也不生成 ATP 分子。就细胞而言,这些终产物也许是"废物",但它们大部分是有商业价值的。然而,当利用氧进行有氧呼吸时,发酵过程基本上停止,葡萄糖的消耗下降,并且酸和/或醇的生成被抑制。这个现象称为**巴斯德效应**(Pasteur effect)。

1.26 有氧呼吸是在哪里发生以及是如何进行的?

若存在可利用的氧,丙酮酸(源自细胞溶胶中的糖酵解)便进入线粒体被酶催化(氧化脱羧作用)转变成乙酰辅酶 A(乙酰 CoA;图 14-4)和二氧化碳。在线粒体的基质中或原核细胞的细胞溶胶中,乙酰 CoA 的两个碳的乙酰单元进入一组酶促反应的循环。这个循环称为 **Krebs 循环**,或**三羧酸循环**(tricarboxylic acid cycle,TCA),或**柠檬酸循环**(citric acid cycle)。NAD^+ 和 FAD(图 14-4)是两个主要的电子载体(受体)。在底物被氧化的过程中,NAD^+ 接受两个电子和一个氢离子(相当于一个氢负离子),使这个载体变成还原形式,NADH。同样,FAD 的还原形式是 $FADH_2$。Krebs 循环完整的一圈产生三分子 NADH,两分子 CO_2 和一分子的 $FADH_2$。来自 NADH 和 $FADH_2$ 的电子和氢离子被转移到线粒体内膜(嵴)中的电子运输链

上。原核细胞的电子载体存在于质膜中。这些链由一系列蛋白质(如含铁的细胞色素)构成。这些蛋白质首先作为电子受体,而后,又作为链中下一个复合物电子供体。这种系列的氧化还原偶联最终把电子和氢离子传递给氧形成终产物——水。沿着这些途径,以氧化磷酸化的方式,从 ADP 合成了若干分子的 ATP。

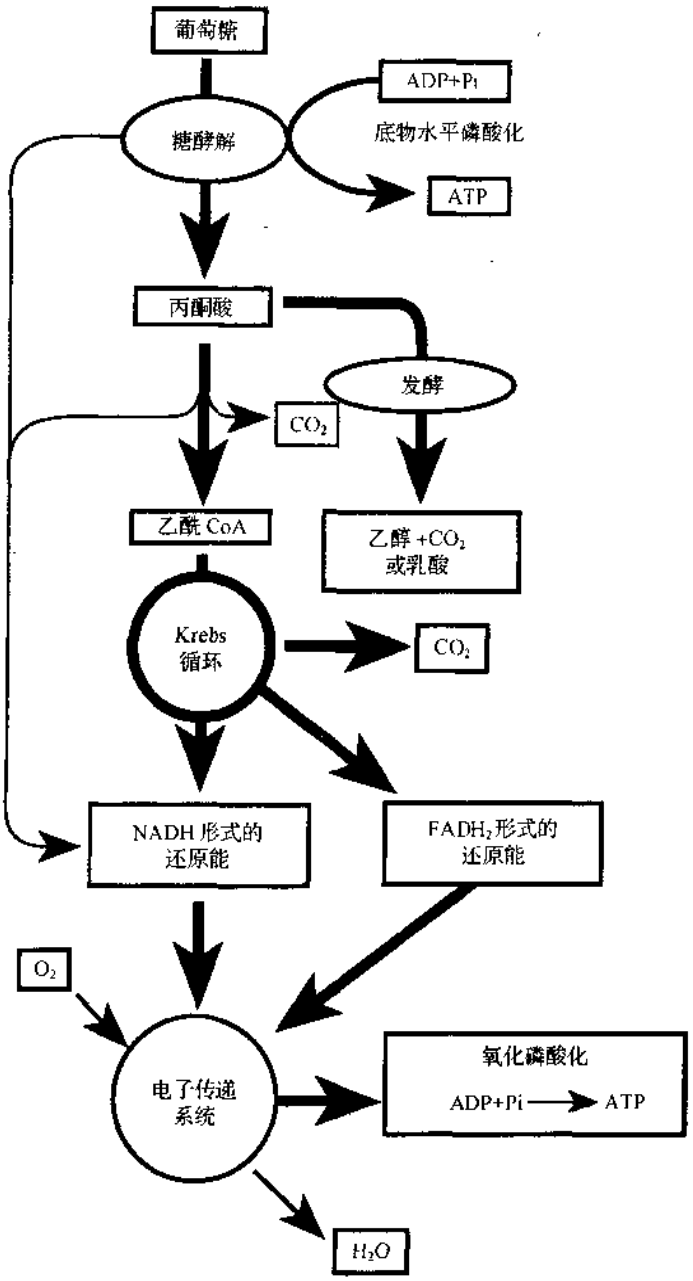


图 1-6　化学异养代谢。

每分子葡萄糖通过氧化呼吸产生的净能量可高达 38 分子 ATP(通过底物水平的磷酸化,在糖酵解和 Krebs 循环各产生 2 个;通过电子运输链的氧化磷酸化产生 34 个)。一分子葡萄糖有氧呼吸的实质内容被归纳如下:

$$C_6H_{12}O_6+6O_2\rightarrow 6CO_2+6H_2O$$

这个方程式的反向即为光合作用的实质内容(稍后讨论)。

1.27　什么是化学渗透假说?

根据**化学渗透假说**(chemiosmotic hypothesis),当电子和氢离子被与膜有关的电子运输

系统分开时营养素中的能量或光能就被细胞存储起来。在膜(如线粒体内膜)的一侧存在的过高的氢离子浓度可形成一个被称为**质子驱动力**(proton motive force,PMF)的电位或电压,**在ATP合成酶**(ATP synthetase,ATPases)的催化下它能驱动 ATP 的合成。ATP 合成酶是跨膜的通道蛋白,它引导离子通过膜来驱动从 ADP 和无机磷(Pi)合成 ATP。

1.28 什么是化学自养代谢的主要特征?

化学自养细胞通过对还原型的无机分子(如铵离子、硫化氢、分子氢、铁离子、亚硝酸根或硫)的氧化来获得它们能量。它们通过一个电子运输系统把产生的电子和氢离子进行传递,并形成膜电位。通过氧化磷酸化该电动势可合成 ATP。例如,亚硝化单胞菌属细菌是专性需氧化学自养生物,它们通过氧化铵离子生成亚硝酸根的过程获得能量。氧是电子和氢离子的最终受体,它被还原形成水。

1.29 什么是光养代谢的主要特征?

多数光养细胞通过利用光能氧化叶绿素(镁卟啉分子)来获得电子。来自叶绿素激发态的电子通过电子运输系统传递并形成膜电位(电动势)。在 ATP 合成酶作用下,当氢离子通过该酶传递,由腺苷二磷酸(ADP)的磷酸化合成 ATP;同时,电动势被消耗。光合磷酸化或为循环,或为非循环。

1.30 循环的光合磷酸化如何完成?

厌氧的绿硫细菌利用光能通过**循环光合磷酸化作用**(cyclic photophosphorylation)(图 1-7),使 ADP 磷酸化生成 ATP。当一组被称为**光系统Ⅰ**(photosystem Ⅰ,PSⅠ)的色素吸收光能时,在名为**苯醌**(quinone)的电子受体俘获前,来自 PSⅠ的电子被驱至一个更高的能态,然后,传递给一个运输系统,通过产生膜电动势促进 ATP 的合成。低能电子从运输系统返回使氧化型的细菌叶绿素发生还原反应,使它回至其最初的状态,因此,通过再吸收光子它可被再氧化。

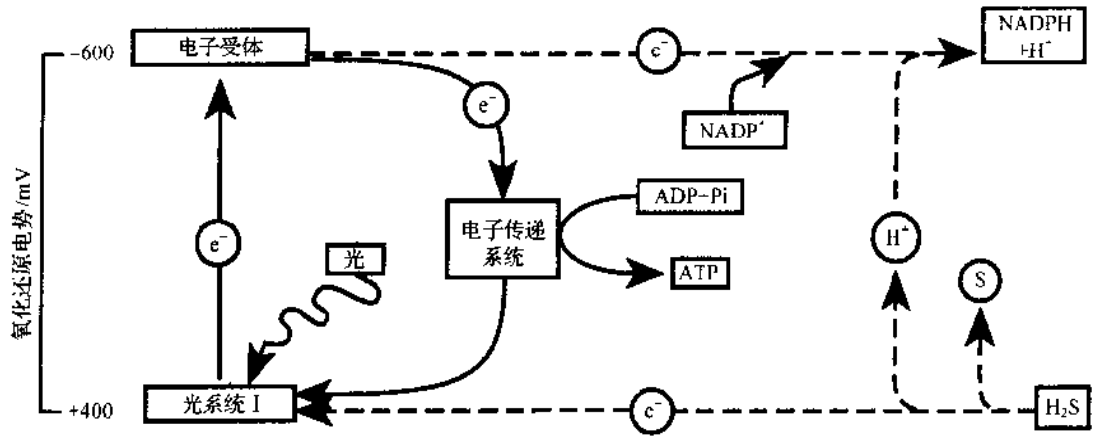


图 1-7 在厌氧光合细菌中存在着循环的光合磷酸化作用。实线箭头表示生成 ATP 的循环途径。虚线箭头表示 $NADP^+$ 还原的选择途径。e^- 代表电子。

当一个厌氧光合细菌含有充足的 ATP,高能电子能绕过电子运输系统转至氧化型的尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸($NADP^+$),形成还原型的 $NADPH+H^+$。将二氧化碳固定去形成碳水化合物需要 NADPH 和 ATP。ATP 提供能量,而合成碳水化合物还需要 NADPH 提供氢原子和电子。在这些厌氧光合细菌中,能还原(加电子)氧化型的 PSⅠ的电子是通过氧化(移走电子)硫化氢(H_2S)而获得的。H_2S 的**光解作用**(photolysis)释放出硫作为其副产物。因此,根据其需要细胞可生成 ATP 或把电子流从电子运输系统转向 $NADP^+$ 生成 NADPH 而不是使其循环返回 PSⅠ。

1.31　非循环光合磷酸化作用在何处存在？它如何起作用？

非循环光合磷酸化作用(图 1－8)存在于蓝藻细菌("蓝绿藻类")和绿色植物，但是，不存在于厌氧的、光合作用的、绿色和紫色的能氧化硫的细菌。两层膜的吸光的色素系统包括：PSⅠ(首次进化于绿色硫细菌的祖先中)和 PSⅡ(从紫色硫细菌的祖先进化)。

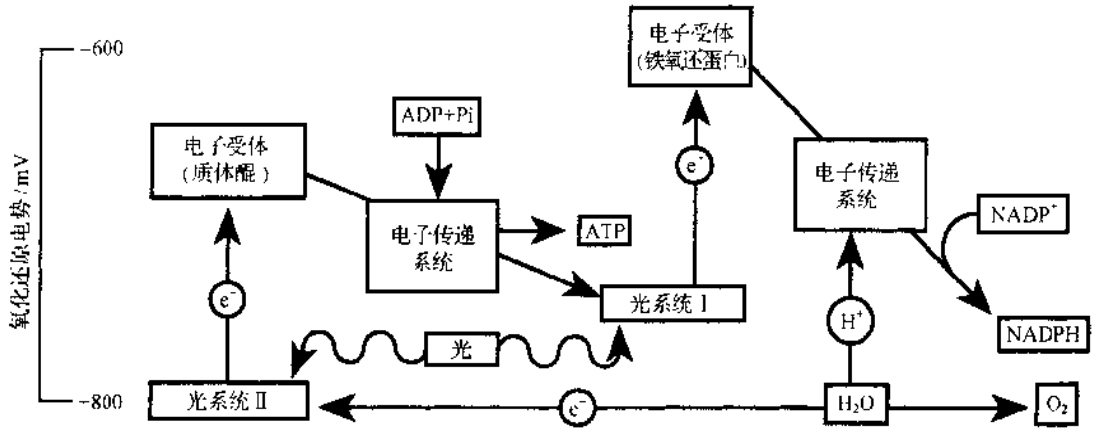


图 1－8　植物和蓝藻细菌非循环光合作用中的两个主要步骤。光合系统Ⅰ与厌氧的光合细菌中的相似，但只产生 NADPH；光合系统Ⅱ产生 ATP。

约 200～300 个色素分子(和特殊的蛋白质)组成称为光系统的簇；许多这样的簇存在于每一个与光合作用有关的膜上。PSⅠ的活性中心含有 14 个结合在一个 110kDa 的蛋白质分子上的叶绿素 a 分子。该色素-蛋白质复合物最大限度地吸收 700nm 波长的光子，因此被表示为 P700。PSⅡ的活性中心含有不同的接受光的色素-蛋白质复合物，它由与一个 28kDa 蛋白质结合的 3 个叶绿素 a 和 3 个叶绿素 b 分子构成的。因该复合物可被比 680nm 短的波长的光子活化，它被称为 P680。

循环光合磷酸化起始于 PSⅡ的 P680 吸光成为氧化型(失去电子)的时候。在此活性状态，P680 易于从水分子接受电子。在非循环光合作用过程中，分子氧是裂解水而产生的废弃物。通过被光活化的 PSⅡ的叶绿素分子，从水分子的光解过程可获得电子和 H^+。这些电子在 PSⅡ中被升至一个高能状态，并被传递给被称为苯醌的电子受体分子。苯醌运输电子跨过植物叶绿体中的类囊体膜(或跨过需氧光合细菌中的类囊体)，形成一个电压并靠 ATP 酶的作用促使合成 ATP。

高能电子流过一个电子传递系统，该系统含有质体醌、细胞色素蛋白和含铜蛋白质**质体蓝素**(plastocyanin)。该铜原子可在+1 和+2 氧化状态交替变化。该电子传递链形成的质子梯度被用于合成 ATP。该电子最终被 PSⅠ中的一个不同的叶绿素(P700)在一个中等能量水平吸收。PSⅠ对光子的吸收提升该电子能量到一个比在 PSⅡ中获得的要高一些的水平。从这个能量状态，该电子流过膜上的铁氧还蛋白分子到可溶性的**铁氧还蛋白**(ferredoxin)。铁氧还蛋白是一个含铁的蛋白质。两分子铁氧还蛋白的每一个分子中的一个铁原子的还原(接受一个电子)是 $NADP^+$ 形成一分子 NADPH 这个过程所必需的。

产自 PSⅠ的高能电子可通过该电子传递系统的一个不同的细胞色素被再循环返回至 PSⅠ，并通过循环光合磷酸化生成 ATP，如此循环往复。在这种情况中，水不被裂解，不生成氧，在没有 NADPH 伴随合成的情况下生成 ATP。

1.32　在前述的问题中，非循环光合磷酸化作用的光依赖反应已被讨论。然而，光合作用中存在不依赖光的反应。它们是什么？

如果有足够的 ATP 和 NADPH 驱动化学反应，向有机分子中固化 CO_2 的反应就可以发

生。由于固化 CO_2 的反应不需要光来驱动，它们被称为非依赖光反应。这些反应能在黑暗的夜里发生，所以，它们有时也被称为"暗反应"。但是，因为它们在光中发生得更快，所以，大多数非依赖光反应发生在有日光的白天。发生在叶绿体基质（类囊体膜外）中的非依赖光反应的一系列酶促步骤被称为**固碳循环**（carbon-fixation cycle）或 **Calvin-Benson 循环**（图 1-9）。

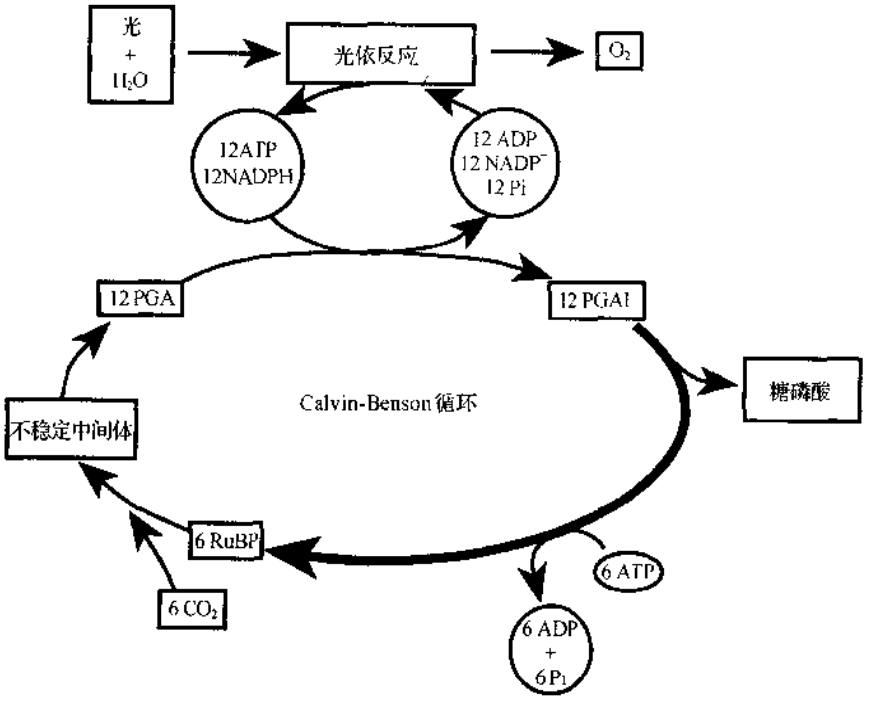


图 1-9 光合作用的依赖光反应和非依赖光反应之间相互作用图示。ADP=腺苷二磷酸；ATP=腺苷三磷酸；$NADP^+$=尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸；NADPH=还原型 NADP；Pi=无机磷酸；PGA=磷酸甘油酸（磷酸甘油酸盐）；PGAL=磷酸甘油醛；RuBP=核酮糖双磷酸。

在这个循环中，五碳糖（其他名称：核酮糖 1,5-二磷酸、核酮糖双磷酸、核酮糖二磷酸或 RuBP）与二氧化碳连接形成一个不稳定的六碳中间体（代谢物），该中间体被迅速裂解为两分子的三碳化合物，该化合物被称为 3-磷酸甘油酸，其盐被称为 3-磷酸甘油酸盐。催化这个反应的酶是核酮糖二磷酸羧化酶，它是一个反应非常慢的酶，有时其酶蛋白的含量超过叶绿体中蛋白质总量的 50%。该酶被认为是生物圈中最丰富的蛋白质。PGA 通过接受一个来自 ATP 水解的磷酸基团更具活性。产生的中间体继而从 NADPH 获得电子和质子（H^+）形成一个名为磷酸甘油醛（PGAL）的三碳化合物。大多数 PAGL（12 个中的 10 个分子）伴随着 ATP 的消耗被转换回 RuBP 分子（如此完成 Calvin-Benson 循环）；但是，其中一些（12 个中的 2 个分子）被重新组入糖酵解途径中磷酸化的糖中间体，如葡萄糖-6-磷酸。这些磷酸化的中间体可作为植物主要碳水化合物（蔗糖、淀粉、纤维素）合成的构成单位。因为，每一个循环只有一个碳原子被还原，所以，合成一个分子的己糖（诸如葡萄糖或果糖）需六圈 Calvin-Benson 循环。

繁　殖

1.33 无性繁殖和有性繁殖的差别是什么？

大多数细胞（不包括成熟红细胞、动物神经细胞和植物的筛管单元）能进行**无性**（asexually）繁殖，即：它们在数量上的增殖或增加并不需要交换或获得新的遗传信息。所有细菌的繁殖几乎全部均以这种方式进行。形成多细胞真核生物的大多数细胞也是以无性的方式进行繁殖。

一些单细胞真核生物和大多数多细胞有机体（植物和动物）主要是从那些已接受其他细胞 DNA 或已与其他细胞交换 DNA 的细胞形成新的个体。这种发育成一个新个体之前的遗传信息的交换和获得被称为**有性繁殖**（sexual reproduction）。有性繁殖的标志是含有一半正常

染色体组的性细胞[称为**配子**(gamete)]的结合和形成。雄性动物的配子称为**精细胞**(sperm cell)[**精子**(spermatozoa)]；雌性动物的配子称为**卵细胞**(egg cell 或 ova)。把大多数体细胞的染色体数量特征减少为配子的相应的特征的过程称为**减数分裂**(meiosis)。来自不同性别的配子或减少细胞核的融合[**受精过程**(fertilization)]形成一个合子或**受精卵**(zygote)——含有两套遗传上不同的染色体。随着受精，在配子开始分裂(通过成熟阶段，将形成全部胚胎的体细胞)之前，二细胞核以配子配合(syngamy)的方式融合。

细菌不形成配子，所以不进行有性繁殖。然而，其中一些能够从其他的细菌细胞至少通过三个准性繁殖过程(详见第 7 章)获得 DNA(通常只有一个或几个基因)。

1.34　在原核和真核生物中无性繁殖有何不同?

细菌的增殖是通过以下的方式进行：体积增长，复制其遗传信息(其基因带的单个环状 DNA 分子)，分开已加倍的染色体，分割细胞质[**胞质分裂**(cytokinesis)]至少使每个子代细胞存在一份基因带。因为胞质分裂通常把细菌细胞分裂为两个大致相等的部分，该过程被称为**二分裂**(binary fission)。

真核细胞的增殖通常是通过以下的方式进行：体积增长(早期胚胎分裂是个例外)，加倍其基因组，分开或分隔加倍的染色体至细胞两极的细胞核，分割细胞质形成子代细胞。真核细胞通过一个精巧的胞质纺锤丝系统分离其基因组多倍的线性的染色体。然而，细菌将其单个基因带("染色体")双拷贝与质膜结合；在这些结合点之间细胞生长，并通过新的细胞壁的形成使胞质分裂，最终把加倍的基因带分割进子代细胞。在细菌和真核生物经历无性细胞分裂的这些方面，因为这些和其他特殊的差异，真核生物的这个过程称为**有丝分裂**(mitosis)。

1.35　真核生物的无性繁殖循环(通常称为细胞周期)的主要阶段是什么?

真核**细胞周期**(cell cycle)(图 1-10)含有四个主要阶段。**S 期**(S phase)是 DNA 合成并拷贝染色体的时段(详见第 3 章)。**S 期**结束和有丝分裂[**M 期**(M phase)]开始的期间是一个间隙，或生长期，被命名为 **G_2 期**(G_2 phase)。另外的间隙或生长期，被称为 **G_1 期**(G_1 phase)，

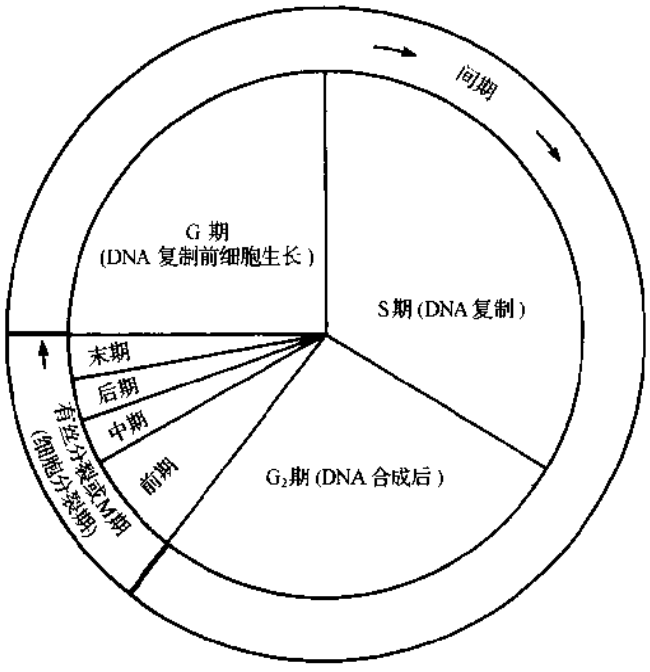


图 1-10　真核细胞典型的无性繁殖循环(细胞周期)图示。如果生长被抑制，在 M 期后可有一个额外的 G_0 期(图中未显示)。(选自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991。)

发生在M期和S期之间，至此细胞周期完成。**间期**(interphase)，是在连续的有丝分裂之间的时期，包括G_1、S和G_2期。控制细胞周期的调节信号和机制见第11章。

1.36 有丝分裂由四个连续的时期构成：前期、中期、后期和末期。在有丝分裂的前期发生的主要事件是什么？

有丝分裂概括于图1-11中。如前述问题中所介绍，DNA复制发生在连续的有丝分裂之间的时期，该时期被称为间期。每个复制的染色体含有两个完全相同的被称为**染色单体**(chromatid)的DNA分子(以及相关的蛋白质)。细长的染色体DNA链围绕着组蛋白盘绕形成串珠样结构[称为**核小体**(nucleosome)]。染色体结构的这些以及其他的细节见第3章。当一个细胞进入有丝分裂，每个伸展的染色体通过自身反复的超螺旋开始变短和变粗[被称为**浓缩过程**(condensation)]。染色体逐渐地成为在光学显微镜下可见的单个的纤维状的结构。最终，核膜消失，并且，从细胞的一极到另一极形成由微管(由α和β微管蛋白装配而成)构成的纺锤体(**spindle**)。所有这些事件均发生在**前期**(prophase)——四个主要的有丝分裂阶段中的第一个。

1.37 在有丝分裂中期发生了什么？

在有丝分裂**中期**(metaphase)，染色体排列在纺锤体的中央[在**中期板**(metaphase plate)或**中期平面**(metaphase plane)的区域中]，该区域通常位于细胞的中部。在纺锤丝之间由动力平衡逐渐形成的这种移动，在每个染色体的**着丝粒**(centromere)(实际上是在附着于着丝粒的蛋白质复合物上)开始从细胞的每一极把染色体向相反方向拖拉。着丝粒构成染色体的初级缢痕，这可用于区别位于着丝粒两端的染色体短臂[**p臂**(p arm)]和长臂[**q臂**(q arm)]。在这一点上，每个染色体的两个完全相同的染色单体在它们的着丝粒区域保持着连接。使染色单体着丝粒保持连接的机制尚不清楚。也许，它们通过结合在着丝粒区域特殊DNA序列的蛋白质而连接。在任何情况下，某些信号(也许细胞质钙离子浓度的增加)可引起两个染色单体的相互分离。

1.38 在有丝分裂的后期有什么特征事件？

在有丝分裂的**后期**(anaphase)，每个复制的染色体的两个前体染色单体通过附着于着丝粒的纺锤体装置中的那些微管的解聚被拉向两极。不再在着丝粒相联的这些前体染色单体被认为是由单个染色单体构成的新的染色体。

1.39 在有丝分裂的末期发生了什么？

当染色体解旋(解压缩)以及形成新的核膜在细胞的每一极把染色体组重新包裹，在这个最后的阶段——**末期**(telophase)，开始细胞质的分裂(胞质分裂)。动物细胞中的胞质分裂使该祖先细胞分成两个子代细胞。在植物细胞中，子代细胞是通过在新细胞核之间的胞质中构成新的细胞壁和膜而形成的。当胞质分裂完成，正常情况下(除非突变)，两个子代细胞中含有完全相同的染色体组和遗传指令。大多数单细胞真核生物无性繁殖新的个体都是通过上述的过程或其中稍有不同。多细胞的菌类、植物和动物也以这种普遍的方式生成所有的体细胞。不涉及有性繁殖的所有的体细胞(即：所有细胞不能进行减数分裂或不能生成减数分裂的产物——配子)称为**体细胞**(somatic cell)。

1.40 纺锤体装置的一些结构特征是什么？

已知有两类纺锤体丝：①**动粒微管**(kinetochore microtubule)，它从一极延伸至着丝粒；②**极性微管**(polar microtubule)，它从一极延伸超过细胞中央一段距离。来自每一极的极性微管蛋白在细胞中部相互重叠。

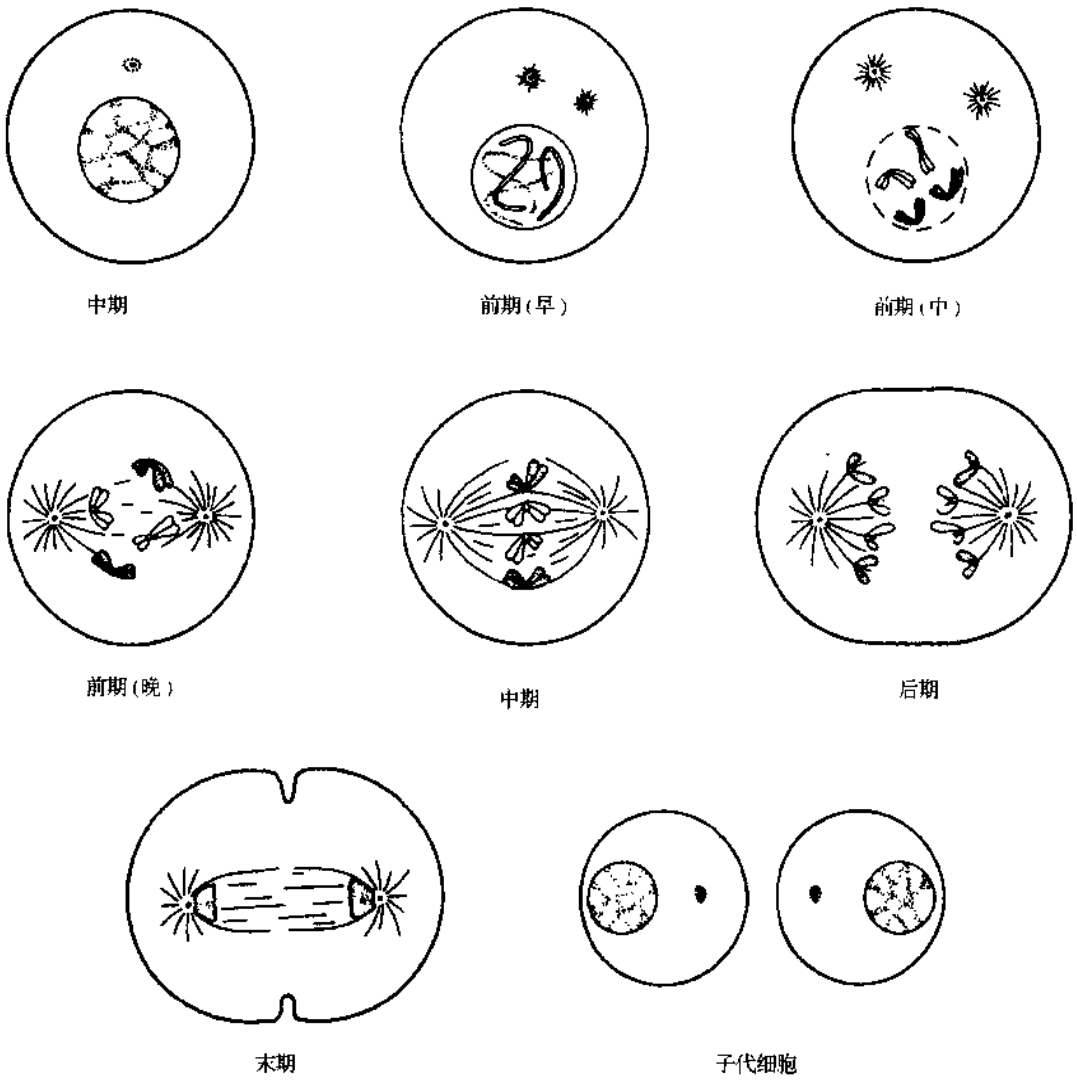


图 1-11　动物细胞有丝分裂示意图。深色的染色体来自于正在进行有丝分裂的一个亲代个体(如母代)；浅色染色体来自于另一个亲代(如父代)。一对同源染色体具有位于中央的着丝粒，因此它被称为中着丝粒染色体；另一对具有长度不等的臂，且着丝粒也偏离中心，故称为亚中着丝粒染色体。(选自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, McGrawHill, 1991。)

动粒(kinetochore)——一个约 400nm 长的暗染多蛋白纤维结构——附着于着丝粒中特殊的 DNA 序列和纺锤体装置的动粒微管。在前期中，由微管蛋白纤维构成的纺锤体在细胞的两极之间出现。在纺锤体的每一端是一个**微管组织中心**(microtubule-organizing center，MTOC)或中心体。

准备有丝分裂的动物细胞在每个 MTOC 中具有一对叫做中心粒的细胞器(图 1-1)；植物细胞在它们的 MTOC 中一般不含有中心粒。每个中心粒在结构上与纤毛和鞭毛的基粒相似。在准备细胞分裂的过程中，每一对中心粒可把微管聚集(或促进生成)形成第二对，但其如何形成的细节尚不清楚。在前期纺锤体形成时，一对中心粒携带缠绕中心体的物质移动到两极。如此，在两极形成新的中心体。

1.41　有丝分裂纺锤体装置通过后期 A 和后期 B 过程，完成复制染色体的两个染色单体的分离。在后期 A 中发生了什么？

在**后期 A** 中，动粒微管通过这些微管中的蛋白质亚单位解聚在其动原体末端被缩短。在动粒纤维的极性末端也许以相同的机制在运转。在着丝粒复制后，两个前体染色单体(现为单

个染色体)可通过动粒纤维的缩短自由地向极点移动。依据这个学说,这些染色体的移动不需要能源(如 ATP)。依据选择模型,**滑动纤维学说**(sliding filament theory),微管生成蛋白质(如动力蛋白或驱动蛋白)是动粒的一部分,它水解 ATP 提供拖拉染色体沿其动粒微管向极点移动的能量,并且在这些蛋白质参与下微管解聚。

1.42 在后期 B 中发生了什么?

在染色体向极点移动的同时,伴随着在它们靠近纺锤体中部的远端极性微管的生长,两极在**后期 B**(anaphase B)中分离。在重叠的区域中反平行的微管相互滑开。还不知道是否有与动力蛋白或驱动蛋白相似的蛋白质参与促进这个滑动,但是,所知道的是驱动后期 B 需要水解 ATP。在极性微管通过相互滑动被推向极点的同时,通过作用在星体微管(从着丝粒向细胞表层呈放射状)上的力,中心粒被拉开。

1.43 在多细胞真核生物中繁殖的主要形式是有性繁殖。有性的生命周期的主要特点是什么?

大多数植物和动物的体细胞是**二倍体**(diploid)($2n$),意味着它们具有两组**同源**(homologous)染色体。一组来源于每个双亲的配子,该配子可形成合子,由合子发育为有机体。每个二倍体物种具有特征的染色体数量(如人类体细胞正常的二倍体数量是 46)。亦如在问题 1.33 中的解释,减数分裂是这样的过程:由二倍体($2n$)状态(体细胞的特征)减少染色体数量成为配子的**单倍体**(haploid)(n)状态特征(人类 $n=23$)。因此实际上,双亲向后代提供相等的染色体数量和相等的核 DNA 总量(与性别有关的例外可参见问题 1.49)。

在多细胞植物(后生植物)或动物(后生动物)中,合子以有丝分裂的方式反复地分裂产生一个多细胞的胚胎。胚胎细胞进行分化来执行作为成熟个体的特殊任务。一个个体的所有体细胞在遗传上是完全一样的,除非有伴随的突变发生。

动物繁殖的器官称为**生殖腺**(gonad)(雌性的卵巢和雄性的睾丸)。在性成熟期,生殖腺的一些生殖细胞被特化而经减数分裂形成单倍体配子。在开花植物(被子植物)中,产生花粉(含有单倍体的精子核)的雄性器官是雄蕊(其花粉囊含有一些能进行减数分裂的细胞);雌性器官是雌蕊(其胚珠含有能进行减数分裂的细胞)。种子(含有一个合子和营养资源)是从受精的胚珠而产生的。减数分裂是这样的过程:把某种性成熟动物的性腺中生殖细胞(或植物中相应的部分)的二倍体数量减少为配子单倍体数量。配子的形成和其在受精过程中的结合产生一个新的个体(合子),完成性循环。

1.44 减数分裂的主要步骤是什么?

减数分裂可认为是两个紧密相连的被多处修改的细胞周期(图 1-12)。一个完整的减数分裂周期涉及一次 DNA 复制和两次胞质分裂,产生四个在遗传上完全不同的单倍体产物。这两个细胞周期为减数分裂Ⅰ和减数分裂Ⅱ,每个均含有自己的前期、中期、后期和末期。染色体在减数分裂Ⅰ之前的间期进行复制。在减数分裂Ⅰ和减数分裂Ⅱ中染色体不再进行复制。

1.45 在第一个减数分裂的前期中发生了什么?

在第一个减数分裂的前期中,复制的染色体被压缩,核膜溶解,并如同有丝分裂过程中那样,生成一个纺锤体。但是,在前期Ⅰ中,同源染色体处于染色体**联会**(synapsis)过程中,它们在染色体全长上点对点,基因对基因,相互配对。联会的机制不清楚。对于遗传于一个亲代的每一套染色体都有来源于另一个亲代的相应的一套。这些同源染色体具有共同的或相似的 DNA 片段(联会所需)。大多数同源染色体外观相似,即:长度相同,着丝粒位置相同和染色后的染色带的样式相同。

☞ **例 1.3**

在人类二倍体细胞，有 22 对同源染色体，它们不参与决定性别；它们被称为**常染色体**(autosome)。有一对**性染色体**(sex chromosome)(记为 X 和 Y)，它们外观不相似，但是，仍认为它们是同源的，因为它们在减数分裂期间有某种程度的联会以及至少在某些区域它们有相似的 DNA 含量。雌性的二倍体细胞有两条 **X 染色体**(X chromosome)；雄性二倍体细胞有一条 X 染色体和一条 **Y 染色体**(Y chromosome)。人类二倍体染色体的数量是 46。减数分裂使染色体数量减少一半。因此，人类配子的单倍体数量特征为 23。每个卵子含有 22 个不同的常染色体和一个 X 染色体。每个精子也含有 22 个不同的常染色体，但是，半数精细胞含有一个 X 染色体而另一半含有一个 Y 染色体。性别相反的配子随机联合产生合子，合子的一半(依概率规律)将发育成雌性(XX+22 对常染色体)而另一半将发育为雄性(XY+22 对常染色体)。

一对联会的同源染色体[称为**二价的**(bivalent)]含有四个染色单体[一个**四联体**(tetrad)]。每个染色体通常有一个以上的这样的区域：在该区域内四个染色单体中的两个在相关的位点断裂并相互交换再结合；这个过程称为**交换**(crossing over)(第 3 章)。一个复杂的梯子状的，被称为**联会复合体**(synaptonemal complex)的蛋白质结构在发生交换的区域形成，并且认为对于交换过程它是必需的。交换重新组合连锁基因(在同一染色体上的基因)。一般来讲，位于同一染色体上的较为紧密的两个基因(连锁)，很少会通过交换与其同源染色体进行重组。交换并不是完全的随机过程，原因不详。染色体的某些区域要比其他区域经历更多的交换，并且，每个区域有其特征的重组速率。姐妹染色单体的断裂和再结合也可发生，但通常没有遗传学上的影响，因为通常姐妹染色单体在交换前后在遗传上是完全相同的。所有这些事件发生在前期 I 中。

1.46　前期 I 后到第一个减数分裂结束发生了什么？

在前期 I 后，同源染色体成对(二价的)地排列在纺锤体的中期板上。在第一个减数分裂期间，每个染色体的着丝粒并不分开。因此，在后期 I 中当纺锤体动粒微管被缩短，它们把同源染色体(不是染色单体)向相反的两极分开。由于每对同源染色体含有一个母系的染色体和父系的染色体，还由于通常只有单一的机会决定着一对中的哪个成员移向一个具体的极点，在非同源染色体上的基因被组入相互独立的配子中。这个过程被称为**独立分配**(independent assortment)。

末期 I (见图 1-12 中植物细胞的细胞壁形成)中的胞质分裂生成两个单倍体细胞，每个含有一套完整的单倍体染色体(基因组)。在这个阶段，每个染色体仍由两个染色单体构成，但是，如果交换已在同源染色体间发生，这两个染色单体也许不再是遗传学上的等价物。一般来讲，第一个减数分裂形成两个遗传学上不同的单倍体细胞。

1.47　在减数分裂 I 结束和减数分裂 II 结束之间发生了什么？

减数分裂 I 和 II 之间的间隔称为**分裂间期**(interkinesis)。这是在前期 II 和中期 II 之后。在此间隔内发生的事件可因种的不同而有所变化，但是，在此并没有遗传学上重要的事件发生。在由末期 I、分裂间期、前期 II 和中期 II 的这段间隔内，染色体解旋，旧的纺锤体消失，核膜重建，细胞胞质分裂，新的纺锤体形成，核膜再次消失，不成对的染色体排列在中期上，着丝粒分开。在后期 II 期间，纺锤体的动粒纤维致使染色单体分离，这同有丝分裂后期相同。因此，减数分裂 I 是一个**减数分裂**(reductional division)(一个二倍体细胞生成两个单倍体细胞)，而减数分裂 II 是一个**均等分裂**(equational division)(染色单体在交换之前是等量的)。胞质分裂发生在末期 II，生成四个单倍体细胞，由于交换和独立分配，它们在遗传上是完全不同

的。至此减数分裂周期结束(减数分裂Ⅰ和Ⅱ)。

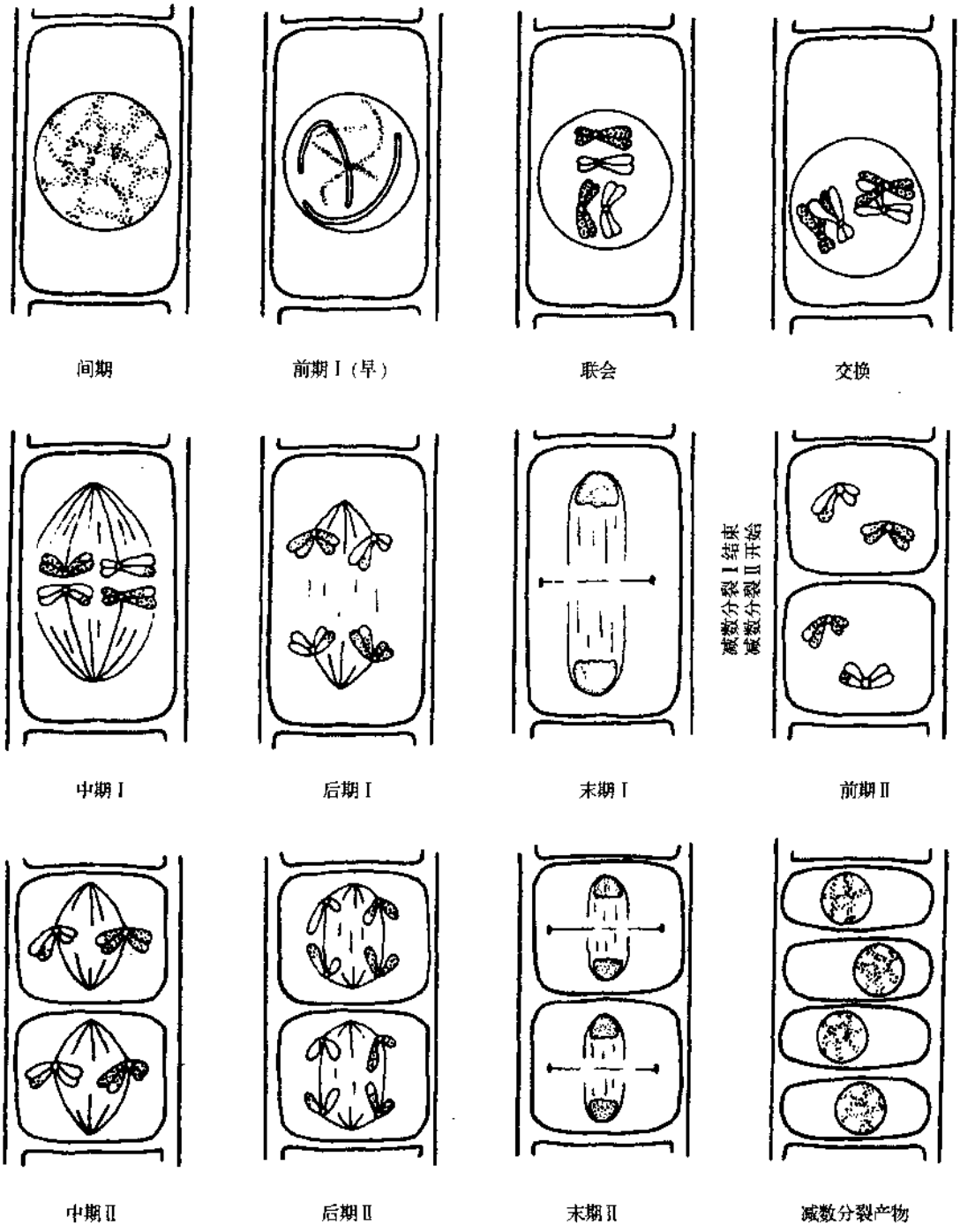


图 1-12　植物细胞减数分裂图示。颜色暗的染色体是来源于一个亲代个体(如母系的或亲代种子)的正在进行减数分裂的染色体;颜色淡的染色体是来源于另一个亲代(父系的或亲代花粉)。一对同源染色体是具中间着丝粒的;另外一对是具亚中间着丝粒的。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, McGraw-Hill, 1991。)

1.48　减数分裂产物如何成为功能性配子的?

一些减数分裂产物可马上作为配子而起作用;其他则需要进行进一步的修饰,如:细胞质重新组构形成鞭毛或尾巴(如人类精细胞的发育)或核糖体和信使 RNA 分子大量的生产(如脊椎动物的卵细胞)。在许多雌性动物(包括哺乳动物)正常的减数分裂期间,不平等的细胞质的分裂致使四个潜在减数分裂产物中的一个保持大量的细胞质。这个过程的三个缺乏细胞质

的产物被称为**极体**(polar body)。它们退化变性并不作为配子发挥作用。

在许多开花植物(如玉米),不伴有胞质分裂的核有丝分裂[**核分裂**(karyokinesis)],在花粉颗粒中产生两个遗传上完全相同的精子核(配子)。在雌性胚囊的发育中,四个单倍体减数分裂产物中的一个减数分后,核分裂生成几个完全相同的细胞核,其中之一成为卵(通过受精它可成为合子);其中之二融合成为二倍体细胞核(通过受精,它可发育为含淀粉的富于营养的组织,称为胚乳);其中的一些则程序化死亡(细胞凋亡)。在双子叶的植物中(如豌豆和豆类),子叶主要含有供种子发芽的营养蛋白质,直到其叶子暴露于阳光开始光合作用。

1.49 比较细菌和真核生物的单亲遗传和双亲遗传。

细菌通常进行二分分裂,因此,子代细胞从单亲代细胞获得所有的遗传(单亲遗传)。然而,在多细胞植物和动物中,后代从两个亲代的每一个获得等量的常染色体基因(双亲遗传)。雌性后代从每个亲代得到一个X染色体,而每个雄性后代从其母亲获得一个X染色体并从其父亲获得一个Y染色体。每个雄性性连锁(X连锁和Y连锁)基因将进行单亲遗传。

一般认为,线粒体和叶绿体绝不是从头生成,而是由事先存在的细胞器的分裂和生长而生成的,在某种程度上与细菌类似。而且,在许多真核有机体(包括人类),具有大的,富含细胞质的卵细胞(大配子)和很小的,缺乏细胞质的精细胞(小配子);事实上,所有的细胞质(包括所有线粒体和叶绿体)仅由母系亲代转移给后代。这些细胞器中的基因也只进行单亲遗传(在这个例子中是母系遗传)。

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 下列中( )只存在子某些细菌而不存在于真核生物。 (a)中心粒 (b)鞭毛 (c)纤毛 (d)细胞骨架 (e)荚膜
2. 下列中( )不发生在线粒体。 (a)Krebs循环 (b)糖酵解 (c)ATP合成 (d)电子传递系统 (e)一个以上的上述情况
3. 下列中( )没有被真核生物的双层膜包裹。 (a)细胞 (b)细胞核 (c)线粒体 (d)叶绿体 (e)一个以上的上述情况
4. 下列中( )不是植物光合作用的特征。 (a)产生的氧来源于水的光解 (b)光能首先被PSⅠ捕获,然后电子被传递给PSⅡ (c)ATP是通过与PSⅠ和PSⅡ相连的电子传递链合成的 (d)光依赖反应生成ATP和NADPH (e)不依赖光的反应使用富含能量的分子来还原CO_2
5. DNA进行复制是在细胞周期中的( )时期。 (a)M (b)R (c)S (d)G_1 (e)以上没有
6. 染色单体向细胞两极分离是在有丝分裂的( )。 (a)末期 (b)中期 (c)后期 (d)前期 (e)间期
7. 化学渗透偶联假说对下列( )现象提供了解释。 (a)染色体的后期移动 (b)糖酵解 (c)纤毛运动 (d)ATP合成酶的活化 (e)碳水化合物的合成
8. Calvin-Benson循环(固碳作用)发生在( )。 (a)细胞核 (b)细胞溶胶 (c)线粒体基质 (d)叶绿体的类囊体 (e)叶绿体的基质
9. 下列中( )发生在减数分裂中而不发生在有丝分裂中。 (a)独立分配 (b)同源染色体的分离 (c)交换 (d)同源染色体的联会 (e)一个以上的上述情况
10. 交换发生在减数分裂的( )。 (a)前期Ⅰ (b)间期 (c)后期Ⅰ (d)中期Ⅱ (e)前期Ⅱ

11. 高尔基体的主要功能是(　)。 (a)不依赖光的光合作用 (b)发酵 (c)电子传递系统的隔离 (d)蛋白质的修饰 (e)作为纺锤体纤维形成的中心点
12. 合成一个葡萄糖分子需要(　)圈 Calvin-Benson 循环。 (a)1 (b)2 (c)3 (d)6 (e)12
13. Embden-Meyerhof 途径开始于葡萄糖,结束于(　)。 (a)丙酮酸 (b)葡萄糖-6-磷酸 (c)乙醇 (d)乳酸 (e)柠檬酸
14. 联系糖酵解和 Krebs 循环之间的代谢物是(　)。 (a)草酰乙酸 (b)丙酮酸 (c)乙酰 CoA (d)柠檬酸 (e)α-酮戊二酸
15. 最初捕获 CO_2 的 Calvin-Benson 循环的五碳糖是(　)。 (a)PGAL (b)丙酮酸 (c)核糖 (d)核酮糖二磷酸 (e)PGA

是非题 正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 原核生物鞭毛的转动由 ATP 水解提供能量。
2. 当一个分子或原子失去一个电子时,它被氧化。
3. 高等植物的叶绿体 DNA 的大小与大多数动物线粒体基因组大致相同。
4. 结合在染色体上的纺锤体纤维也与着丝粒上的 DNA 直接结合。
5. 在后期 A 中在动粒末端的纺锤体微管的缩短不需要 ATP 的水解。
6. 构成细菌鞭毛的蛋白质与构成真核生物鞭毛的蛋白质不同。
7. 不同长度的染色体不是遗传上的同源染色体并且不发生联会。
8. 通过减数分裂重组的紧密连锁的基因通常少于那些相距较远的基因。
9. 通常所有的线粒体和叶绿体都含有其多拷贝的单个环状双链 DNA 基因组。
10. 葡萄糖完全氧化磷酸化要比发酵至少多产生 15 倍的净 ATP。
11. 循环的光合磷酸化不生成氧。
12. 光合作用的不依赖光的阶段主要发生在夜晚(在黑暗中)。
13. Calvin-Benson 循环的终产物是葡萄糖。
14. 在减数分裂中,染色体的分离是在染色单体分离之前。
15. 因为在减数分裂Ⅰ中,同源染色体成对随机地排列在中期板上,所以,通常不同染色体上的基因相互独立地进入配子。

匹配题 把 A 栏中的每个项目与 B 栏中最合适的一个配对;B 栏中的每个项目只使用一次。

A 栏	B 栏
1. 白色体	A. 微管组织中心
2. 核糖体	B. 蛋白质修饰和定向
3. 基因组	C. 蛋白质合成
4. 线粒体	D. 细菌 DNA 锚定
5. 中心粒	E. 基粒
6. 间体	F. Krebs 循环
7. 质粒	G. 细菌 DNA 从基因板分离
8. 多糖-蛋白质复合物	H. 淀粉储存
9. 叶绿体	I. 细胞外多糖细胞包被
10. 高尔基复合物	J. 全部遗传指令

术语 除非特殊指明,每个答案为一个词。

1. 必要的细菌细胞遗传指令总量
2. 在一类细菌代谢中,细胞在没有光的情况下氧化无机化合物(如分子氢、氨或硫化氢)从

CO_2 生成有机分子。

3. 描写一个能生活在一个以上的特殊环境条件(如有氧和无氧)下的有机体的形容词。
4. 线粒体内膜向内折叠，并有呼吸酶结合其上。
5. 当氢离子在线粒体膜的一侧聚集浓缩后，通过电子传递系统生成能量。(三个词)
6. 溶剂在半透膜隔开的两个溶剂浓度不同的溶液之间的扩散。
7. DNA 与组蛋白结合形成的真核生物结构——串珠结构。
8. 不伴有细胞质分裂的核分裂。
9. 一个把葡萄糖氧化为乙醇或乳酸的厌氧代谢类型。
10. 糖酵解的终产物。
11. 一个纤维结构，它在染色体的着丝粒区域生成，并有纺锤体微管与直接结合。
12. 在动物细胞极性区域的微管组织中心(MTOC)的一个同义词。
13. 一个分子，它从光系统Ⅱ接受电子并把它们转运过膜，由此产生一个用于 ATP 合成的电压。
14. 在减数分裂中形成一对同源染色体过程。
15. 在叶绿体中含有与光合作用有关的酶类的囊泡。

答　案

选择题

1. e　2. b　3. a　4. b　5. c　6. c　7. d　8. e　9. e(a，b，c，d 都发生在减数分裂中)
10. a　11. d　12. d　13. a　14. c　15. d

是非题

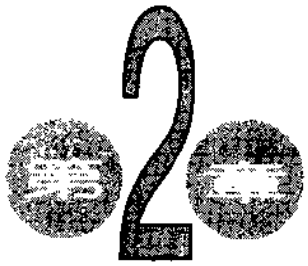
1. F(质子驱动力)　2. T　3. F(叶绿体 DNA 较大于 10 倍)　4. F(与动粒结合)　5. T
6. T　7. F(X 和 Y 染色体的长度不同，但是，在减数分裂中它们在一定程度上联会)　8. T
9. T　10. T　11. T　12. F(主要在白天)　13. F(Embden-Meyerhof 途径的磷酸化中间物)　14. T　15. T

匹配题

1. H　2. C　3. J　4. F　5. A　6. D　7. G　8. I　9. E　10. B

术语

1. 基因板　2. 化能自养　3. 兼性的　4. 嵴　5. 质子驱动力　6. 渗透作用　7. 核小体
8. 核分裂　9. 发酵　10. 丙酮酸　11. 动粒　12. 中心体　13. 苯醌　14. 联会　15. 类囊体



生物大分子

导　言

生物化学是分子生物学的核心，它是一门丰富的学科，在“全美经典学习指导系列”《生物化学》(Schaum's Outline of Biochemistry)中已全面介绍。**新陈代谢**(metabolism)这个术语是指细胞使用能量和合成细胞成分的所有步骤。我们假设读者已经获得了至少是初步的新陈代谢的知识作为学习本书内容必要的背景。因此，**生物大分子**(biomacromolecule)——如多糖、膜脂质、蛋白质和核酸——中小的构件[**单体**(monomer)和**残基**(residue)]是如何合成的，本书将不做讨论。然而，这些单体的结构和功能，以及它们聚合成大分子[**多聚体**(polymer)]的基本过程，将在本章中有所介绍。关于蛋白质和核酸的合成将另章单独讨论。

碳水化合物

2.1　什么是碳水化合物？它们如何分类？

纯碳水化合物的经验式是：$(CH_2O)_n$。除去水，剩下的全是碳。最小的碳水化合物是简单的糖，即**单糖**(monosaccharide)。葡萄糖(右旋糖)是六碳单糖(己糖)，它是大多数异养细胞的基本能源。核糖和脱氧核糖是五碳糖(戊糖)，它们分别是 RNA 和 DNA 的构成成分。**寡糖**(oligosaccharide)是两个至六个左右**单糖**构成的小的碳水化合物的多聚体。甘蔗糖(蔗糖)是两个单糖——葡萄糖和果糖(水果糖、葡萄糖的异构体)——构成的二糖。蔗糖是在植物细胞之间运输的主要糖类，而葡萄糖是在动物细胞之间运输的主要糖类。乳汁中的主要糖类——乳糖，是葡萄糖和半乳糖(葡萄糖的差向立体异构体)构成的二糖。自然界中大多数碳水化合物分子是由数百个糖单位构成的，由此它们被称为**多(聚)糖**(polysaccharide)。

2.2　多糖是如何构成的？为什么它们可构成在结构上多种多样的生物大分子类型？

多糖的**单体**通过特异酶的作用以**糖苷键**(glycosidic bond)(图 2-1)共价相连。多糖在结构、组成和大小上变化范围较宽，这源于四个因素：①构成重复单位的单糖的种类；②糖之间连接的类型；③单个链的长度；④分支的可能性及其范围。因此，任何一个多糖的纯样品将由不同聚合度和不同大小的分子构成。两个完全相同的单糖可以不同的键合方式形成 11 个不同的二糖。四个不同的单糖可连接成 35 560 个不同的四糖。试比较，四个不同的核苷酸(核酸的单体单位)只能排列出 24 个不同的线性四核苷酸。

同聚多糖(homopolysaccharide)由单一类型的单糖构成。纤维素、淀粉和糖原(动物淀粉)是全部由葡萄糖亚单位构成的同聚多糖。它们的不同主要是在分支的数量上。**杂多糖**(heteropolysaccharide)含有两个以上种类的单糖。大多数杂多糖在重复单位中只含有两类或几类单糖。例如，透明质酸(动物结缔组织的重要成分)由含有 *D*-葡萄糖醛酸和 *N*-乙酰-*D*-葡萄糖胺的二聚体重复单位构成。由于氨基含有氮，其杂聚糖的分子式与纯的碳水化合物经验式不同。含有氨基糖的杂多糖如透明质酸，称为**黏多糖**(mucopolysaccharide)，另一个重要的黏多糖是甲壳质。它完全由 *N*-乙酰-*D*-葡萄糖胺单元构成；它构成了昆虫和甲壳动物的

外骨骼。菌类的细胞壁和霉菌孢子包被也许含有纤维素，但是，甲壳质是它们的主要成分。

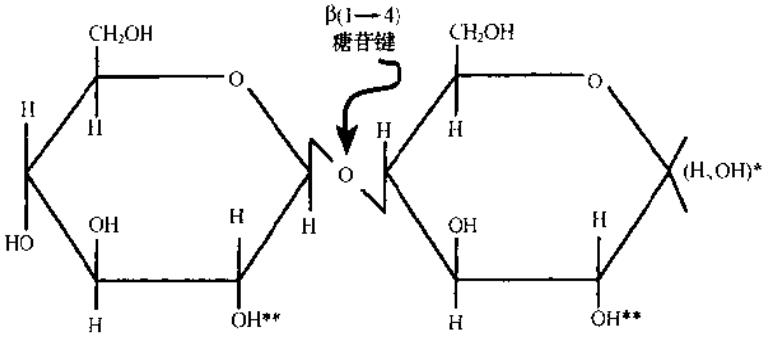


图 2-1 纤维二糖(纤维素基本的重复单位)是葡萄糖分子通过 β(1→4)糖苷键结合的二糖。单星号(*)表示：在此位置上，H 和 OH 可以互换(即自由旋转)。用 NHCOCH基团置换羟基(双星号**)可生成甲壳质的基本重复单位——*N*-乙酰葡萄糖胺(NAG)。

2.3 细胞的碳水化合物起什么作用?

碳水化合物在生命系统中有五大功能：①以单糖或寡糖的形式作为易于利用的能源；②在植物中以淀粉的形式或在动物中以糖原的形式储存大分子能源；③结构成分，如植物细胞壁中的纤维素和节肢动物的甲壳质；④细胞通讯中的信号分子；⑤细胞与细胞间的特异附着。

2.4 在问题 2.2 中讨论的碳水化合物在结构上多样性的巨大潜力，使这些分子在作为细胞识别标记方面非常有用。该识别现象是如何发生的?

在质膜上表面碳水化合物常与蛋白质结合成为**糖蛋白**(glycoprotein)或与脂质结合成为**糖脂**(glycolipid)。表面碳水化合物的种类和数量在细胞发育、分化、被细菌或病毒感染、衰老或癌变等过程中会发生变化。这些表面碳水化合物一般不相互作用。相反，每个表面碳水化合物"标记"分子可被一个结合有特殊表面碳水化合物的蛋白质[称为**外源凝集素**或**选择蛋白**(lectin or selectin)]所识别。在一个细胞上的外源凝集素和另一个细胞上的碳水化合物靶点之间的相互作用是非常特异的。该特异性可由反应物的立体化学结构(分子中原子的三维排布)和弱化学相互作用(氢键、离子键和范德华力)来解释。反应物之间在空间距离上的精确定位——类似于手套中的手或锁和钥匙——是在外源凝集素和其同源的碳水化合物之间、酶蛋白和其底物之间或抗体蛋白和其同源的抗原之间等，形成特异性的原因。与表面碳水化合物类似，表面外源凝集素的种类和(或)数量也随着细胞发育状态、生理状态和病理状态而变化。

2.5 碳水化合物介导的特异的细胞相互作用的例子。

所有细胞在其表面都有碳水化合物存在，它们可作为附着点起作用于：①相同细胞之间(如在胚胎分化过程中)；②不相同的细胞之间(如病原细菌感染特殊类型的宿主细胞)；③激素与其靶细胞之间；④病毒或细菌毒素和宿主细胞之间。

例 2.1

一般来讲，在所有胚胎器官形成以后，在胚胎发育期间可移动的普通细胞不再在组织间迁移。淋巴细胞是这个规律的一个显著的例外。这些免疫细胞可在机体内继续迁移去寻找外源抗原物质。淋巴细胞特异性地选择在小血管内皮下迁移，并通过与内皮细胞表面上的碳水化合物"归巢受体"结合通过特定器官的组织空间。肿瘤细胞也常产生异常的表面碳水化合物，该碳水化合物也许是这些细胞侵入和迁移(或转移)能力所必需的；这些细胞不仅在其发源组

织内迁移，也可在整个机体内迁移。

☞ **例 2.2**

细菌病原体不仅有其特异的**宿主范围**(一类或多类易感宿主种类)，而且还有其与之附着的特异的细胞或组织类型。一般认为，细菌的附着是由细菌上特异的外源凝集素与易感宿主细胞上的碳水化合物互补结合所介导的。这是感染过程的第一个步骤。例如，淋病的病原体，淋球菌，黏着于人类的生殖器和口腔上皮细胞，但是，不黏着于其他器官或动物种类的细胞。

细菌外源凝集素可结合在表面碳水化合物的末端或结合在这些分子较内部的位置。具有不同结合于碳水化合物的外源凝集素的不同细菌可附着于同一表面碳水化合物受体的不同部位。有时，在宿主细胞上表面碳水化合物只暴露一个面。因此，该细胞只被一种细菌识别，而不被其他种类细菌识别。如此，表面碳水化合物的存在模式也许是其作为识别分子而起作用的一个重要方面。

2.6 真核生物中四个最常见的多糖是纤维素、甲壳质、淀粉和糖原。比较纤维素和甲壳质的结构。这些分子是如何被消化的?

纤维素(cellulose)是生物界最丰富的有机化合物。与果胶、木质素、半纤维素和糖蛋白一起，纤维素形成植物细胞壁，它保护细胞免于被内部的渗透压裂解和外部的摩擦损伤。纤维素是一个由纤维二糖重复单位构成的同聚多糖，它是由 *D*-葡萄糖通过 β(1→4)糖苷键依次连接构成(图 2-1)。由于哺乳动物缺乏可裂解 β(1→4)糖苷键的**纤维素酶**(cellulase)，所以，它们不能代谢纤维素。食草哺乳动物的肠道内具有共生的微生物菌群来消化纤维素。

甲壳质(chitin)是自然界中第二个最丰富的有机化合物。它是昆虫和节肢动物外骨骼的主要结构成分。甲壳质是由 *N*-乙酰葡萄糖胺重复单位通过 β(1→4)糖苷键连接而构成的(图 2-1)。*N*-乙酰葡萄糖胺是细菌细胞壁的主要成分(见问题2.10)，**甲壳质酶**(chitinase)消化甲壳质。

2.7 淀粉是由什么组成的? 它是如何消化的?

淀粉(starch)是植物储存能量的主要分子。腺苷三磷酸(ATP)是细胞提供能量的主要分子，但是，ATP 并不像淀粉那样在细胞内积聚。与纤维素类似，淀粉是葡萄糖单位的同聚体，它们以 α(1→4)和 α(1→4)键连接(图 2-2)。而纤维素是 β(1→4)键。而且，淀粉是由两类葡萄糖多聚体构成的混合物：不分支的称为**直链淀粉**(amylose)而分支的称为**支链淀粉**(amylopectin)。在酶[如唾液和胰腺**淀粉酶**(amylase)]消化淀粉的过程中，淀粉被水解为麦芽糖和葡萄糖。麦芽糖是由两个葡萄糖单位通过 α(1→4)连接构成的二糖，它可被麦芽糖酶裂解为两个分子的葡萄糖。

2.8 糖原和淀粉结构的比较。

糖原(glycogen)是动物体内最丰富的作为能源储存的多糖。它由葡萄糖单位通过 α(1→4)键连接构成的多聚体，并且，它也通过 α(1→6)键形成支链(由此被称为"动物淀粉")。然而，淀粉的 α(1→6)键较糖原少。

2.9 多糖是如何合成的?

多糖(如糖原、纤维素和淀粉)或二糖(如蔗糖)的合成需要活化的葡萄糖单体形式，在糖原和蔗糖的情况下，活化的形式被称为尿苷二磷酸葡萄糖(UDP 葡萄糖；图 2-3)。糖原合成酶

催化葡萄糖从 UDP-葡萄糖转移到一个生长的糖原链的末端羟基上。

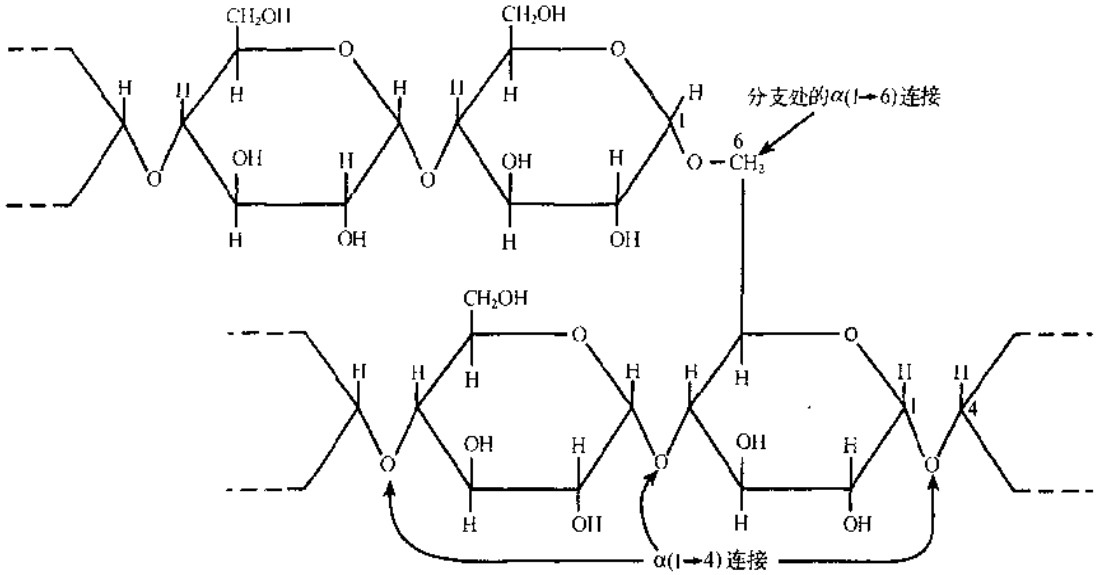


图 2-2　在支链淀粉和糖原中葡萄糖亚单位线性链之间的分支。除了糖原有更多的分支以外，糖原与支链淀粉完全相同。在支链淀粉中约 25 个葡萄糖单位发生一次分支。

纤维素的生物合成涉及 GDP-葡萄糖(UDP-葡萄糖的含鸟嘌呤的类似物)或其他核苷酸二磷酸糖(依赖于植物的种类)，但是，该过程的细节尚不清楚。

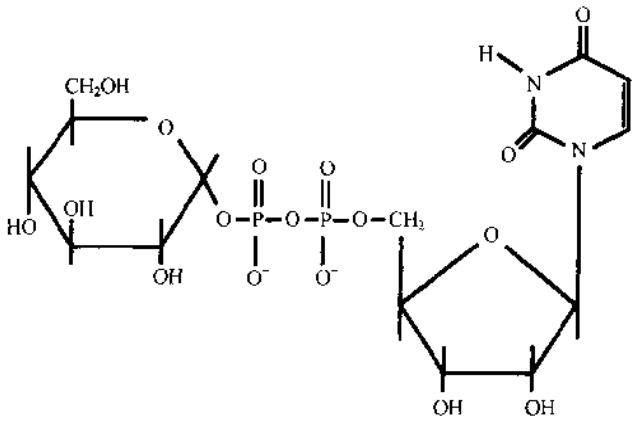


图 2-3　尿苷二磷酸葡萄糖，糖原合成的活化单体。

当甘油醛-3-磷酸(通过固碳循环在叶绿体的基质中生成)被转换为葡萄糖-1-磷酸，淀粉合成开始；葡萄糖-1-磷酸依次被用于合成直接活化的淀粉前体，即一个被称为腺苷二磷酸葡萄糖(ADP-葡萄糖)的核苷酸二磷酸糖。在过量的光合活动期间淀粉以大颗粒储存在基质中，而且，在夜晚淀粉被降解来提供植物所需的能量。然而，在叶绿体中形成的甘油醛-3-磷酸被转运到细胞质，在此通过糖酵解的某些反转步骤，它被转换为葡萄糖-1-磷酸和果糖-6-磷酸。葡萄糖-1-磷酸被转化为 UDP-葡萄糖，它与果糖-6-磷酸结合成为磷酸蔗糖，蔗糖的直接前体。

2.10　细菌细胞壁结构与细菌分类有何关系?

大多数细菌的细胞壁不含有纤维素，但是，含有一个不同的多糖，称为**肽聚糖**(peptidoglycan)。肽聚糖由两个糖(*N*-乙酰葡萄糖胺和 *N*-乙酰胞壁酸)交替构成。另外，一条四个氨基酸的链(四肽)结合在每个 *N*-乙酰胞壁酸分子(图 2-4)(与相邻肽聚糖的连接有关)形成一个

单个的巨型分子，它作为细胞壁而发挥作用。

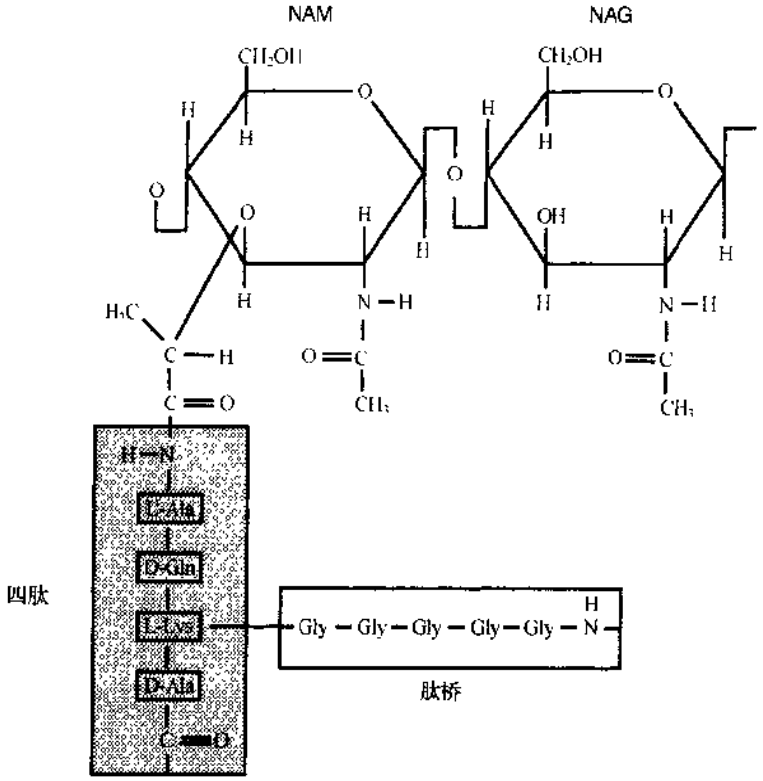


图 2-4　金黄色葡萄球菌细胞壁中肽聚糖的重复结构单位。NAM=*N*-乙酰胞壁酸；NAG=*N*-乙酰葡萄糖胺；四肽由 *L*-丙氨酸，*D*-谷氨酰胺，*L*-赖氨酸，*D*-丙氨酸；肽桥=肽聚甘氨酸(Gly_5)。在大分子生长期间，*D*-丙氨酸被加于已存在的四肽上。然而，当这个五聚甘氨酸在其另一个末端与一个不同的多糖链的四肽中的 *D*-丙氨酸结合成键，这个额外的 *D*-丙氨酸被除掉。

绝大多数细菌具有共同的细胞壁成分(肽聚糖)，类似的蛋白质合成分子(tRNA，rRNA；见问题 2.56)和类似的 RNA 合成酶(RNA 聚合酶；见第 4 章)。然而，也有例外。菌质是现存的最简单的原核生物，它们能自由的生存；它们没有细胞壁(见问题 2.15)。原始细菌是一类细胞壁内缺乏肽聚糖成分的原核生物。菌质和细胞壁内有肽聚糖成分的原核生物在分子水平具有相同的结构，所以它们被归为一类，称为**真细菌**(eubacteria)。**蓝藻细菌**(cyanobacteria)(蓝绿细菌、蓝绿藻类)是细胞内有广泛与光合作用有关的内膜的原核生物，它可释放分子氧。这些主要的结构和代谢的差异被许多分类学家注意到，他们认为蓝藻细菌不属于真细菌。然而，基于本书的用途，本书中的真细菌将包括蓝藻细菌。原核生物的第三个类别是原始细菌。这些有机体在它们的细胞壁中缺乏肽聚糖(尽管某些种类含有相似的被称为假肽聚糖的多糖)，并且，它们的tRNA、rRNA 和 RNA 聚合酶与真细菌的有显著的不同。原始细菌将在第 14 章更全面的讨论。因此，细胞壁或细胞壁结构的存在与否不是把细菌分为两大类——真细菌和原始细菌的最终的标准。

2.11　真细菌具有两类细胞壁。它们如何区别？

具有较厚肽聚糖层的真细菌保持结晶紫染料的程度要好于那些具有薄肽聚糖层的细菌。丹麦医生 Hans Christian Germ(1853～1938)发现：依据在用酒精冲洗后它们是否可保持结晶紫(蓝紫色)或番红(浅红色)，可把细菌分为两类。那些着深紫色的称为**革兰氏阳性**(gram-positive)菌；那些着色浅的称为**革兰氏阴性**(gram-negative)菌。这两类细菌对革兰氏染料不同的反应是由于革兰氏阳性菌中存在**磷壁酸质**(teichoic acid)多聚体(磷酸和甘油或核糖醇交

替地共价结合在细胞壁肽聚糖层的胞壁酸残基上或质膜的糖脂上)。革兰氏阴性菌的细胞壁缺乏磷壁酸质。

2.12 革兰氏阴性菌的细胞壁由什么构成?

除了质膜以外,革兰氏阴性菌具有第二个脂质双层[称为**外膜**(outer membrane or outer envelope)]包绕着肽聚糖壁,也可看作细胞壁的一部分。许多蛋白质被嵌入内膜和外膜。这些蛋白质中的某些蛋白质把外膜固定于肽聚糖壁。其他一些蛋白质是形成通道和孔道(只允许某类细胞外分子通过外膜)的微孔蛋白。通过微孔蛋白通道的大多数分子的行为是被动扩散,但是,其中一些需要特殊的**转运蛋白质**(transport protein)或受体来通过外膜。在质膜和外膜之间的区域构成了**周质间隙**(periplasmic space)。肽聚糖壁位于周质间隙中。

2.13 青霉素不损伤人类细胞而杀伤细菌,其原因何在?

青霉素是由青霉属的真菌产生的抗生素。所有的青霉素,自然的和化学修饰的,抑制肽聚糖壁的合成。青霉素的结构(图2-5):一个并合了一个β-内酰胺的四氢噻唑环,并有一个可变的基团(R)(如一个苄基)通过一个肽键与其联结。青霉素通过不可逆的抑制**糖肽转肽基酶**(glycopeptide transpeptidase)(催化不同的肽聚糖链的交联)来阻止细菌细胞壁合成的最后步骤。没有广泛的交联,细胞壁失去其结构的完整性。青霉素对转肽基酶有高度的特异性,这是由于其结构类似于新生肽聚糖链末端的 *D*-丙氨酸-*D*-丙氨酸(该酶的底物之一)。由于没有人类的酶识别这个序列,所以,青霉素不影响我们自己的酶促过程。

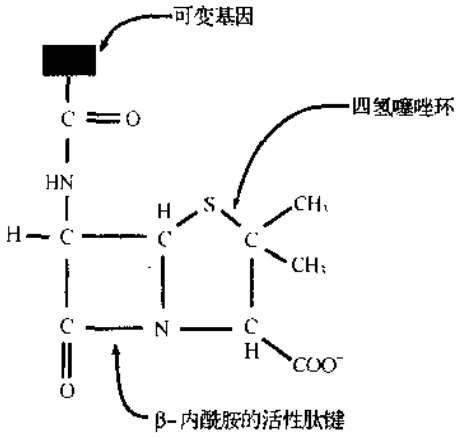


图2-5 青霉素分子的基本结构。

大多数细菌在其细胞壁或周质间隙中含有一种酶,当它被活化后它可裂解细胞壁。在正常的生长过程中,这些自毁酶处于抑制状态。但是,当这些细胞死亡,这些酶的抑制控制被解除,细胞被溶解。当细胞壁的构建被青霉素抑制时,这些控制也可被解除。调节这些控制的机制还不清楚。

2.14 在什么条件下青霉素敏感细菌可不受青霉素的影响?

如果细胞的外环境是**等渗**(hypertonic)的(含有同样的物质或溶质的总量)或轻微**高渗**的(含有更多的溶质)时候,青霉素敏感细菌可在青霉素存在的情况下生长。青霉素对处于静止(生长)期的细菌没有作用,因为它不能使细菌细胞壁降解;它只影响细胞壁的合成。

2.15 什么是原生质体?它们对青霉素如何反应?

缺乏细胞壁的细菌被称为**原生质体**(protoplast)或**L型**(L form)细菌;如果把它们**转移**到一个**低渗**(hypotonic)环境(含有的溶质比细胞内少)中,它们将溶解。在大多数种类细菌中原生质体以突变体(罕见)形式存在,它们通常能够以非常低的频率转回正常类型。然而,通常所有的支原体属的细菌缺乏细胞壁,它们不能通过突变来拥有细胞壁。因为,它们细胞膜中含有固醇,所以,它们在常规培养基是稳定的。其他细菌或L型细菌的细胞膜中不含有固醇。青霉素对原生质体或支原体没有作用。**支原体**(mycoplasmas)是能自由生存的生命最小形式的细菌种类。由于缺乏细胞壁,它们在形状上具有高度的可变性。青霉素对病毒也没有作用,因为它们也没有细胞壁。

2.16　为什么有些细菌可耐受青霉素?

某些细菌合成并分泌一种酶(称为青霉素酶或β-内酰胺酶),它可切断青霉素β-内酰胺环中的酰胺键进而形成青霉酸;青霉酸没有抗细菌的性质。各类青霉素酶的活性主要依赖于结合在β-内酰胺环上的R基的种类。半合成青霉素已被合成为具有不被大多数青霉素酶识别的R基团,这更具医学应用价值。抗青霉素的另外类型发生在细菌的突变株中;该突变株只生成已变型的青霉素不能识别的糖肽转肽酶。

2.17　链球菌属细菌的多糖荚膜在发现DNA携带特异遗传信息方面起到了重要的作用。相关的内容是什么?

肺炎双球菌在人类、小鼠和其他易感哺乳动物中引起肺炎。通常,这些细菌的细胞壁被一种黏稠的、发亮的、多糖荚膜所包绕。一种类型荚膜由交替排列的葡萄糖和葡萄糖醛酸酯构成(图2-6)。该荚膜赋予细菌可抵御宿主有机体免疫细胞的损害。有荚膜的细胞在营养琼脂板上形成具有光滑边缘的克隆,它们被称为**S型**(S type)肺炎球菌。一个肺炎球菌的突变株缺乏脱氢酶;该酶在荚膜形成的途径中可把尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-葡萄糖)转变为UDP-葡萄糖醛酸酯。这些突变体细菌在培养板形成有粗糙边缘的克隆,因此,它们被称为**R型**(R type)肺炎球菌。

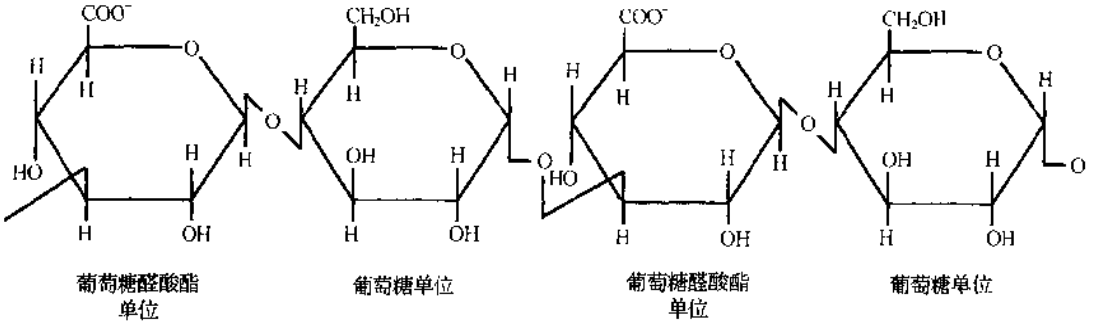


图2-6　荚膜多糖的一种类型,由葡萄糖和葡萄糖醛酸酯交替排列构成。

在1928年,Fred Griffith发现:把一个活的R株和热灭活的S株的混合物给小鼠注射后,**无毒性**(avirulent)(非致病的)的R株可被转化为**有毒性**(virulent)(致病的)的S株。单独的R株或热灭活的S株都不能杀死小鼠。但是,该混合物可杀死小鼠,并且,在死的小鼠血液中可检到活的S株肺炎球菌。从R型到S型的改变是永久的,并且可以遗传。这个**转化**(transformation)过程(来自环境的裸DNA的同化作用),通过向活R株中加入热灭活S株的无细胞提取液,在体外也能发生。Griffith当时并不了解"转化素"(如他所称)的性质。

六年后(1944),Oswald Avery,Colin MacLeod和Maclyn McCarty报道了所谓转化素就是脱氧核糖核酸(DNA)。他们的结论基于这样几个事实:①纯化的高活性的转化素的化学分析显示:转化素的结构成分与DNA的成分非常一致;②当使用超速离心、光学及电泳分析后,发现转化素与DNA具有相同的特点;③除去蛋白质和脂质后不影响转化素的转化能力;④用蛋白消化酶[**蛋白酶或肽酶**(protease or peptidase)]胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶处理,也用**核糖核酸酶**(ribonulease)(可消化核糖核酸)处理,对转化素均无影响;⑤当用**脱氧核糖核酸酶**(deoxyribonuclease)(特异降解DNA的酶)处理,转化素被破坏。

在Avery等报道之前,生物学家们认为染色体蛋白质是遗传物质。但是,由这些研究者(Avery等)提供的严密的证据显示DNA具有遗传的特征。虽然,大多数科学家不情愿马上放弃当时正流行的蛋白遗传学说,最后,许多由相互独立的工作者提供的其他证据使人们接受了这个观点:DNA是遗传物质而蛋白质不含有遗传信息。

脂　　类

2.18　脂类与碳水化合物、蛋白质和核酸的区别是什么?

脂类是不溶水(非极性的)的分子,它可溶于弱极性的或非极性的溶剂中,如:氯仿。脂类的定义是基于一个物理学性质,而碳水化合物、蛋白质和核酸的定义是基于化学结构。

2.19　在活的有机体中脂类的两个重要功能是什么?

脂类在所有类型细胞中最重要的功能是利用其特性来形成片状的膜。原核和真核细胞的质膜把细胞质包在细胞内而与外环境分隔,如此,使得细胞作为生命的一个单位在行使功能。真核细胞还具有内部的膜(如内质网膜、核膜、线粒体膜和叶绿体膜),这些膜把细胞内部依其特殊功能进一步进行分隔。

另一个脂类的重要功能是作为能量储存分子。碳水化合物(如植物中的淀粉和动物中的糖原)也有此功能。然而,脂肪甘油脂类(特别是甘油三酯)是动物中含量最丰富的脂类,并且,它是比糖原和淀粉有效的多的能量储存分子。

2.20　有三种主要的膜脂:磷脂、糖脂和固醇。简要介绍每种分子类型的结构。

磷脂的**磷酸甘油酯型**(phospholipid)(图 2-7a)是一个磷酸化的醇,在头部有一个酯化的甘油,在尾部依次有两个脂肪酸链与甘油相连。甘油、乙醇胺(细菌细胞膜)、肌醇(脑组织)和胆碱(真核细胞)是在膜磷酸甘油酯中发现的一些醇的部分。两个脂肪酰侧链可以是**饱和**(saturated)的(缺乏双键)或**不饱和**(unsaturated)的(含有一个或多个双键);或一个链是饱和的而另一个是不饱和的。只有不起源于甘油的膜磷脂是鞘磷脂。在它的极性头部有一个磷酸化胆碱单位。鞘磷脂的骨架是鞘氨醇;鞘氨醇是一个通过一个酰胺键连接的不饱和的烃链。

动物细胞膜中的糖脂是鞘糖脂(图 2-7b),在头部有一个或多个极性(溶于水的)糖单位,在尾部有鞘氨醇的烃链和有机链或乙醇。糖脂(或埋在质膜中的糖蛋白)糖的部分一成不变地位于细胞的外表面。在植物和细菌的糖脂中,甘油构成糖类和脂肪酸链之间的联接。糖脂和磷脂二者均易于联接自然地形成一个脂质双层膜(见问题 2.23)。

固醇,如胆固醇,含有一个与图 2-7c 中所示的相似的多环结构。胆固醇在其头部有一个极性的 OH^- 基;除了 OH 基整个分子是其非极性单位。胆固醇大量存在于动物的质膜中,但是,在植物的质膜中以及植物和动物细胞器的膜中较为缺乏或没有胆固醇。与胆固醇不同,固醇在植物质膜中具有重要作用。除了少数的膜中,在大多数原核生物中不存在固醇。在较复杂的动物如哺乳动物中,胆固醇是类固醇(包括性激素如睾酮、雌二醇和孕酮,以及肾上腺皮质激素)的基本的生物合成前体。这些激素通过抑制和刺激蛋白质合成来调节基因表达。固醇易于通过脂膜并能直接与细胞质的成分或核的成分发生反应。其他类型的化学信使(如蛋白质激素)必须被特异的细胞表面的蛋白质(受体)识别。这类蛋白质-蛋白质相互作用常在细胞溶胶中导致一系列的瀑布式反应,最后会影响细胞核内 DNA 的活性。

2.21　什么因素影响脂膜的流动状态?

细胞膜呈现二维的半流体结构;它允许嵌入的蛋白质分子通过侧向扩散相当自由地不断地移动(图 2-8)。然而,膜蛋白质不能自由地从膜的一侧转动到另一侧。含有一个或多个糖的膜蛋白质(糖蛋白)和膜的糖脂总是把糖的部分置于细胞的外表面。许多这些糖类单位是作为细胞内通讯信号的受体在起作用(见第 11 章)。原核细胞膜的流动性可由脂类分子构成的膜中脂肪酸链的长度和双键数量的变化来调节。在动物细胞膜中固醇脂类(类固醇)的数量也是膜流动性的一个关键调节因素。

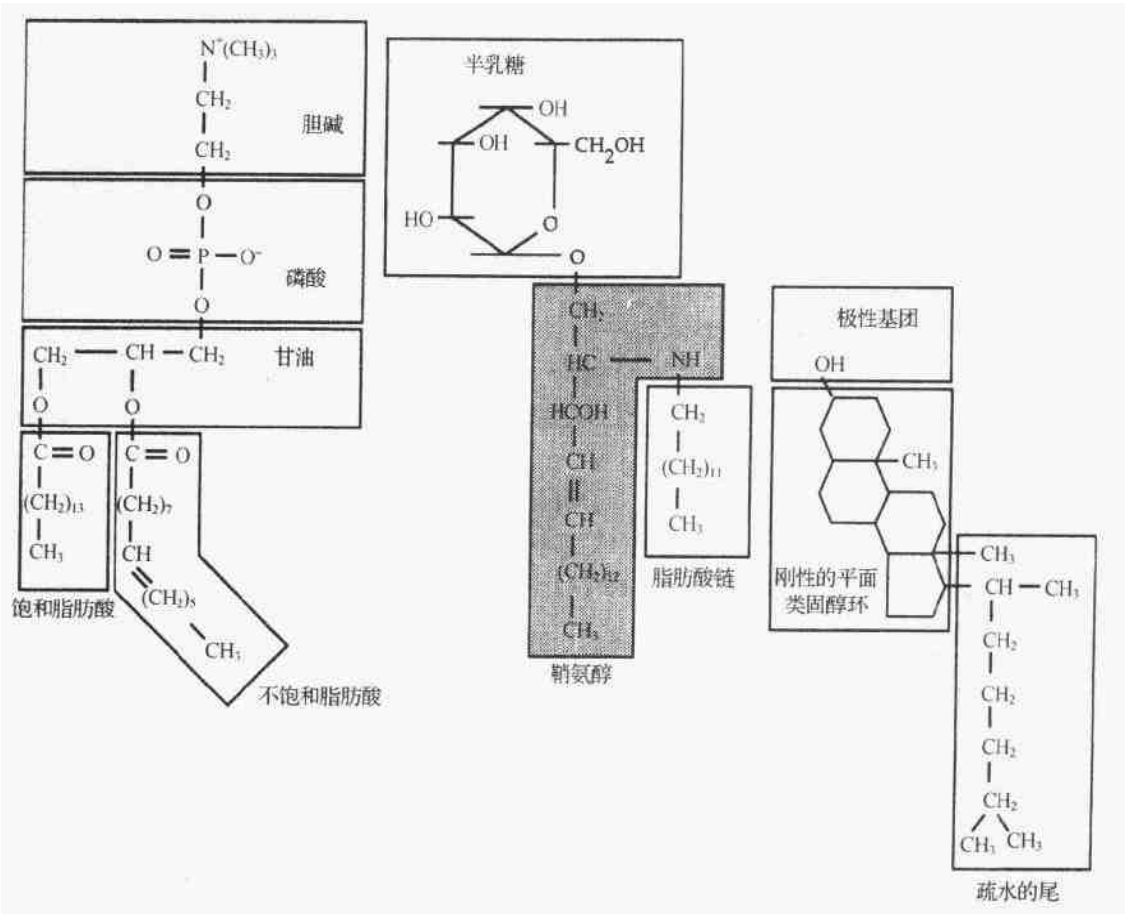


图 2-7　三种主要的膜脂。(a)磷脂(如称为磷脂酰胆碱的磷酸甘油酯);(b)糖脂(如鞘糖脂);(c)固醇(如胆固醇)。

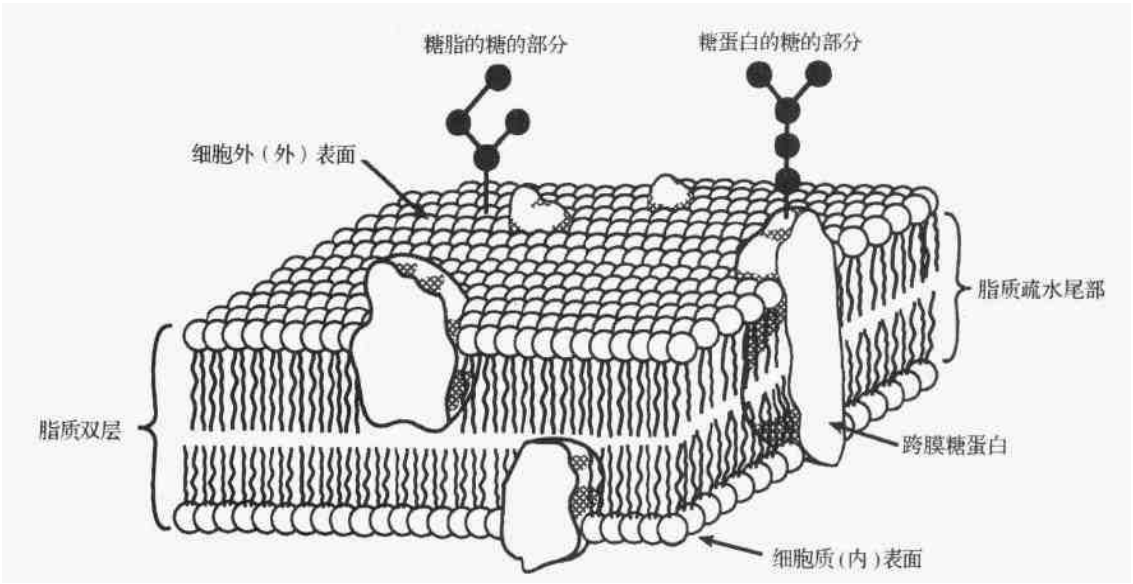


图 2-8　脂质双层膜的图示。根据膜结构的流动镶嵌模型,嵌入膜中的多种蛋白质极富流动性。极性脂质嵌合的双层其厚度约为 5nm(50Å)。

2.22　质膜是一个选择性过滤器，它控制着营养素和其他细胞内过程所需分子的进入。代谢的废物通过这个膜传递出细胞。这些分子是如何跨膜移动的？

生物膜中的脂质常具有长度为 16 或 18 个碳原子的尾部。这样的膜对于离子和大多数极性分子具有非常低的渗透性。然而，水可容易地通过膜从浓度高的区域被动扩散到浓度低的区域。含有极性基团的大多数分子不能通过脂膜，但是，也可通过由特异膜内在蛋白质形成的离子通道进入细胞。或通过特异膜载体蛋白质消耗能量被主动运输跨过膜。例如，存在于质膜上的钠-钾运输系统可逆浓度梯度把钠离子泵出细胞而把钾离子泵入细胞。ATP 水解成 ADP 提供能量来驱动这个泵。细胞的这些对细胞外信号作出反应控制离子和营养素在细胞各个部分的浓度的能力几乎完全依赖于嵌入各种细胞膜上的特殊蛋白质的种类和数量。

2.23　蛋白质和核酸的合成需要模板。多糖和脂膜不是依模板构建的。大分子的脂膜是如何合成的？

在膜中存在的**磷酸化**(amphipathic)的脂质两性化合物，它含有一个**亲水**(hydrophilic)的极性“头”区域和一个或多个非极性的**疏水**的“尾”(通常仅是脂肪酸链或其他碳氢化合物)。与多糖合成需要酶的催化不同，当脂质的浓度超过一个临界值时，膜脂质倾向于自然地形成大分子双层(一般约 50Å)聚集在水中[1 埃(Å)等于 10^{-10} 米；1 纳米(nm)等于 10^{-9} 米或 10 埃]。低于这个浓度，单个的脂质分子保持溶于水相的状态。磷脂的带电荷的极性头部在该双层的外部，在此它们能与水相互作用。膜脂质不溶水的碳氢尾部通过在该双层中间相互非共价的聚合来躲避水——一种被称为“疏水键”的现象。这个双层结构形成了众所周知的**单位膜**(unit membrane)。为了避免与水相互作用，一个脂质双层倾向于形成一个自我封闭的、中空的、扁平或球形的囊泡。一个细胞实质上就是一个巨大的由脂质双层(单位膜，也称质膜)包绕的囊泡。

蛋　白　质

2.24　什么是蛋白质？什么是它们共有的特征？

每个蛋白质链是在核糖体上合成的，它是通过共价酰胺键即**肽键**(peptide bond)联结氨基酸单体构成的不分支的线性序列。蛋白质结构中有 20 种氨基酸。氨基酸和糖的绝对构型可参见 *D*-甘油醛的结构。*D* 型[**对映异构体**(enantiomer)]的非重叠镜像称为 *L* 构型(*L* 意为左，或“左手的”)；*L* 构型是在核糖体上合成的所有生物蛋白质的结构形式。然而，*D* 型氨基酸(*D* 意为右，或“右手的”；*L* 构型的光学异构体)也出现在某些原核生物分子中(如细菌细胞壁)和某些肽类抗生素中(如短杆菌肽 S)。所有的氨基酸具有相同的基本结构，如图 2-9 所示。在每个氨基酸的中心是一个 **α 碳原子**(α carbon)。它的左边(常规写法)是一个碱性(电离时)的氨基(NH_3^+)。α 碳原子的右边是一个酸性(电离时)的羧基(COO^-)。一个氢原子与 α 碳原子形成第三个键，第四个键与一个侧链基团(R)相联。氨基酸之间的差异源于其 R 基团的性质。

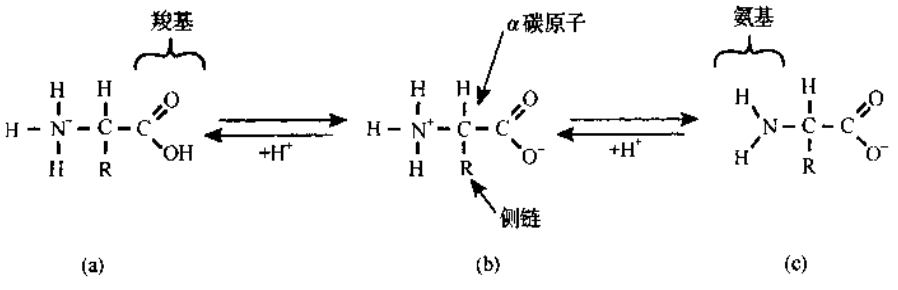


图 2-9　在不同 pH 值中氨基酸的一般结构。(a)酸性溶液中的主要形式；(b)中性(pH 7)溶液中的主要形式；(c)碱性溶液中的主要形式。

2.25 蛋白质在生命系统中具有酶催化功能、结构功能和其他功能。列出了一些蛋白质的主要功能类型并且每种类型至少给出一个例子。见表 2.1。

表 2.1 某些蛋白质和肽类的功能

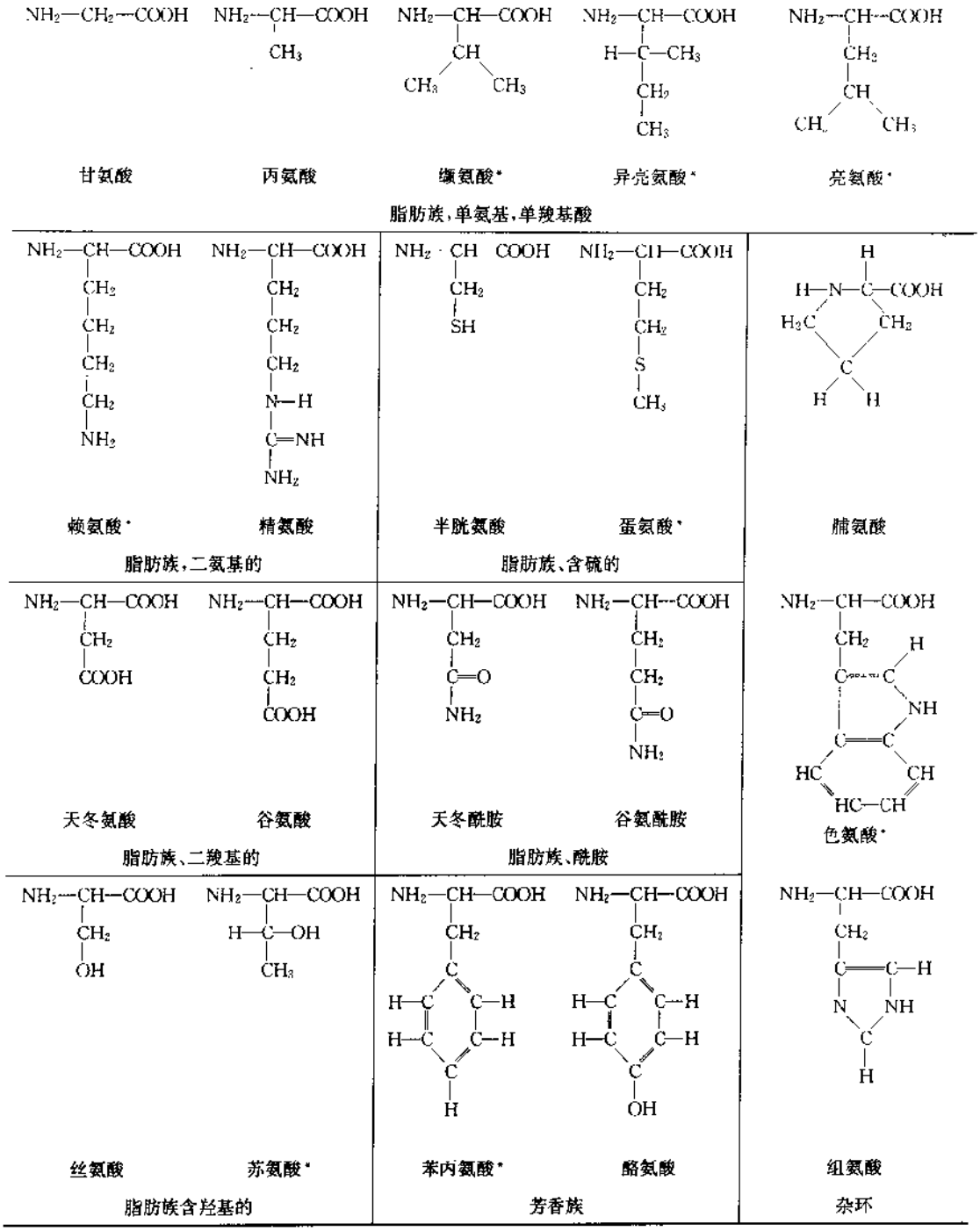
蛋白质类别	功 能	举 例
运动蛋白	使细胞器在细胞内移动和细胞自身的移动(阿米巴运动、胞吞和胞吐作用)	微管蛋白、鞭毛蛋白、肌动蛋白、细胞骨架的中等纤维
锚定蛋白	细胞之间相互附着或细胞与基质附着。	纤连蛋白、钙黏着蛋白
收缩蛋白	凭借纤维滑动的收缩作用	肌动蛋白、肌球蛋白
结构蛋白	提供支撑和强度	胶原蛋白、角蛋白、弹性蛋白、丝心蛋白、丝蛋白
酶蛋白	催化生物化学反应	DNA 聚合酶、β-半乳糖苷酶
运输蛋白	携带分子跨膜或从一个细胞到另一个细胞	血红蛋白、半乳糖苷通透酶、转铁蛋白、肝珠蛋白、(膜)孔蛋白
激素	不同类型细胞间信号传递、刺激作用和抑制作用	胰岛素、胰高血糖素、促滤泡激素(FSH)
营养蛋白	食物储藏	卵清蛋白、玉米醇溶蛋白
细胞表面受体	标记细胞作为激素、病毒和生长激素的作用靶点、神经冲动的传导	胰岛素受体、噬菌体附着位点、神经细胞生长因子、视紫质、乙酰胆碱受体
核蛋白	与DNA 结合压缩其长度;与 RNA 结合参与翻译	组蛋白,翻译的起始、延伸、终止因子
阻抑蛋白	与 DNA 结合阻断转录	大肠杆菌中的乳糖阻抑蛋白
激活蛋白	与 DNA 结合刺激转录	分解代谢物基因激活蛋白(CAP)
神经递质	神经元之间的信号传递	脑啡肽、内啡肽
免疫球蛋白	识别抗原、免疫功能	IgG、IgM、IgA 类抗体
补体	细胞溶解、免疫功能	从 C1 到 C9
止血因子	血液凝固	凝血酶、纤维蛋白
自身识别	个体的专有标记、免疫功能	主要组织相容性(MHC)抗原
核糖体蛋白	核糖体结构成分	细菌中,30S 亚单位中的 21 蛋白(S1 到 S21);50S 亚单位中的 34 蛋白(L1 到 L34)
能量转导	把电子从一个分子转移到另一个分子	细胞色素、细菌视紫质
毒物或毒素	防御化学制品、帮助捕获食物	蓖麻子中的蓖麻毒蛋白、蛇的毒液
自动调节	帮助调节渗透压、pH 和血液黏度	血清白蛋白和球蛋白

2.26 氨基酸如何分类?

氨基酸可以各种方式分类。表 2.2 把氨基酸分为八类。脂肪族氨基酸具有直的或线性的侧链。芳香族氨基酸具有环状的碳侧链。杂环氨基酸至少有一个环含有碳和氮。

另一个分类系统基于氨基酸在生理条件下所携带的净电荷而把它分为三大类:中性、酸性、碱性。在中性氨基酸中,有些是非极性疏水的,如:丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、色氨酸(Trp)、脯氨酸(Pro)、蛋氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe);其他的是极性疏水的氨基酸,如甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、谷氨酰胺(Gln)、半胱氨酸(Cys)、天冬(Asn) 酰胺。这些氨基酸的一个字母和三个字母的符号列于表 5.1 的图例中。在极性亲水氨基酸中,有两个酸性氨基酸(天冬氨酸和谷氨酸)和三个碱性氨基酸(赖氨酸、精氨酸和组氨酸)。两个含硫氨基酸中,只有半胱氨酸可以相互之间形成共价的二硫键。两个半胱氨酸的含硫侧链氧化通过二硫键相互结合形成衍生氨基酸——胱氨酸。这些二硫键有助于

表 2.2　20 个存在于核糖体合成的蛋白质中的氨基酸的结构式。氨基酸分类的依据是它们侧链的化学性质



* 哺乳动物饮食中必需的。

摘自 A Dictionary of Genetics, Fourth Edition, 1990, by Robert C. King and William D. Stansfield, Oxford University Press。

蛋白质三级和四级结构的稳定。脯氨酸含有一个次级氨基，这导致脯氨酸不能参与蛋白质二级结构 α 螺旋的构成。脯氨酸经常出现在多肽链的转弯处，在此处它干扰 α 螺旋的形成。脯氨酸的侧链结合在 α 碳原子上并且又与氨基结合形成环状结构；因此，实际上脯氨酸是一个亚氨基酸，但是，这个事实常被忽略，一般还是把它作为氨基酸看待。

2.27　什么是必需氨基酸?

大多数细菌能从简单的碳源（如葡萄糖）生产所有它们所需的复杂的有机分子。在这方面大多数动物代谢的复杂程度不如细菌。必需氨基酸的种类依物种的不同而有所差异。例如，

在 20 种制造蛋白质所需的氨基酸中，有 8 种人类不能合成；这 8 种氨基酸称为**必需氨基酸**（essential amino acid），它们必须存在于我们进食的食物中。虽然，在表 2.2 中酪氨酸并没有作为必需氨基酸而打上星号，但是，它是由必需氨基酸苯丙氨酸合成的；因此，酪氨酸也被认为是一个必需的氨基酸。

2.28 在活细胞中氨基酸是如何连在一起构成蛋白质的？

氨基酸合成多肽链的过程是发生在核糖体上，这将在第 5 章中讨论。肽键是在酶的催化下通过脱水而形成的（图 2-10）。从一个氨基酸的羧基上去除一个氧原子，同时从第二个氨基酸的氨基上去除两个氢原子。余下的碳和氮各分享一个电子形成共价的肽键。

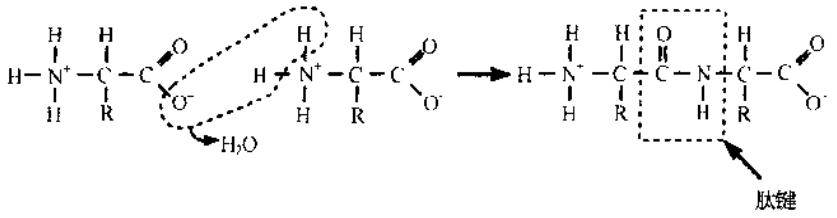


图 2-10 通过形成肽键脱水合成一个二肽。

2.29 多肽链有极性吗？

有。在链的一个末端（通常画在左侧）有一个自由的氨基。在另一端（依习惯在右侧）有一个自由的羧基。除了每条链的侧链和末端氨基酸，在多肽链中没有自由的氨基或羧基结合在 α 碳原子上，因为存在于自由氨基酸（以它们合成多肽链）中的每一个这类基团会在肽键（把氨基酸连在一起）的脱水合成过程中被破坏。因此，每条多肽链有一个氨基端或 N 端和一个羧基端或 C 端。

2.30 多肽链和蛋白质之间的差别是什么？

寡肽（oligopeptide）是相当小的多聚体，通常在长度上少于 10 个氨基酸。**多肽**（polypeptide）是分子质量小于 5000 Da 的分子。[Da（Dalton），是一个与一个氢原子质量相等的单位；$1Da=1.67\times10^{-24}g$。]一般把超过 5000 Da 的氨基酸链称为蛋白质。许多功能性蛋白质由一条独立的氨基酸的多肽链构成。在这种情况下，一个完整的多肽链等同于功能性蛋白质。然而，在其他的例子中，一个功能性蛋白质可由两个或多个完全相同的链[**同聚体**（homopolymer）]或不同的链[**异聚体**（heteropolymer）]构成。在此种情况下，一个独立的多肽链不能等同于功能性蛋白质。除非这些差别是重要的（将被注明），在本书中蛋白质这个术语等同于多肽链。

2.31 不同多肽链之间的差别是如何形成的？

多肽链含有的具体的氨基酸（残基）种类和数量可以不同。有些链可含有超过 100 个氨基酸。另外一些要短于 100 个氨基酸。多肽平均含有 300 个左右的残基（单聚体）。此外，不仅多肽链中的氨基酸组成可以不同，而且，多肽链中氨基酸相互排列的顺序也可不同。即：两个长度相等氨基酸组成相同的多肽链其残基的顺序可能不同。所有某一特定种类的完整合成的多肽链（如血红蛋白的 α 链）在所有方面都是完全相同的，因此，可以获得其蛋白质结晶；该结晶可进行 X 射线衍射分析来观察多肽的结构。

功能性蛋白质分子的一级结构是指每条多肽链中氨基酸的线性序列（图 2-11a）。

2.32 蛋白质的二级结构主要有两种：α 螺旋，β 折叠片层。什么是 α 螺旋？

当一个肽键的羰基（C—O）与在同一链上约四个残基距离的氨基酸的肽键侧面的一个亚

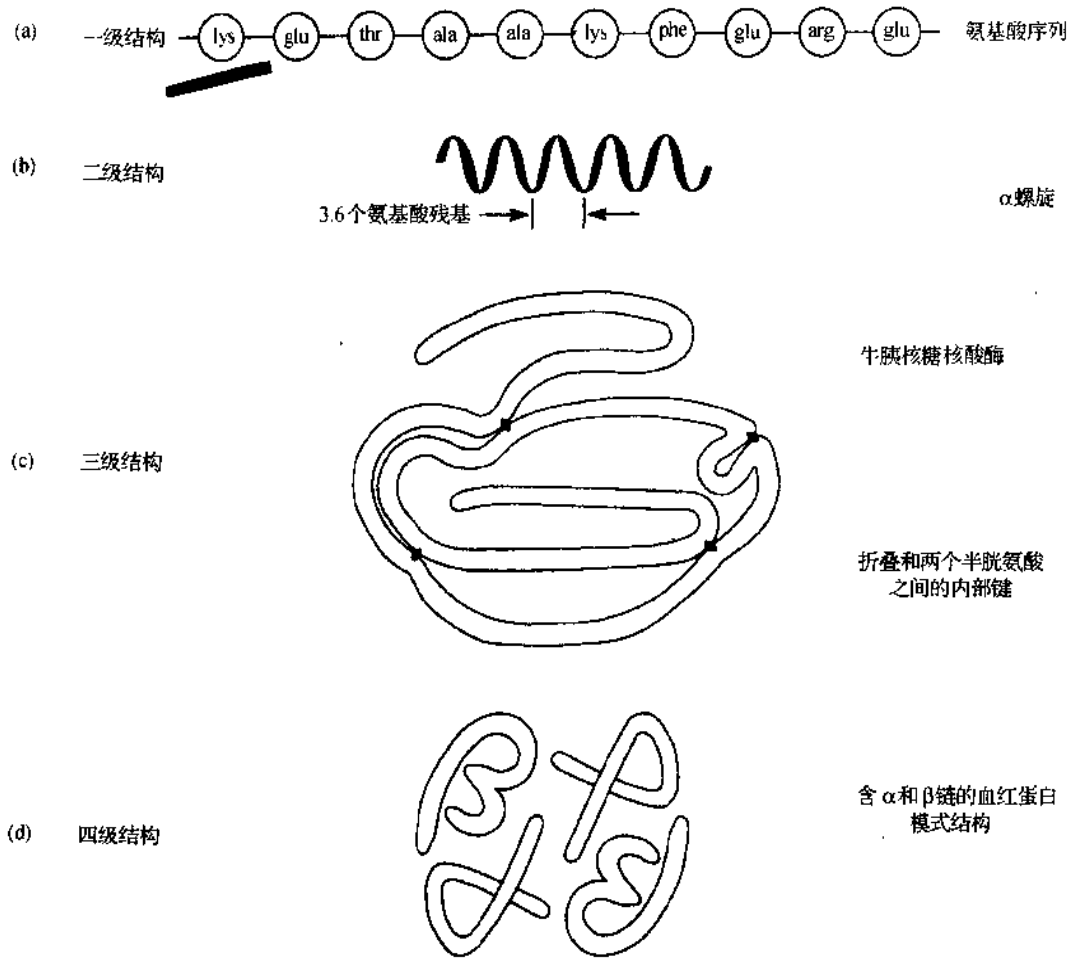


图 2-11　蛋白质四个结构水平(a～b)图示。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991.)

氨基(NH)通过一个氢键(共用一个质子,或氢核)相联,就可形成 α 螺旋(alpha helix)(图 2-11b)。该螺旋每 3.6 个氨基酸残基一圈。一个多肽链可以不是从头至尾全为 α 螺旋。常存在被非螺旋区域间隔的 α 螺旋域(domain)。可妨碍 α 螺旋形成的因素之一是脯氨酸的存在。因为,脯氨酸氨基上的氨组入一个环中,它不能与链上相应位置的羰基形成氢键。脯氨酸的刚性可在多肽链中形成扭结或弯转。

2.33　什么是 β 折叠片层?

不溶于水的蛋白质倾向于形成纤维结构。此类蛋白质的例子:指甲、角和毛发中的 α 角蛋白,韧带中的胶原蛋白,具有弹性的弹性蛋白,以及丝。纤维蛋白质的多肽链中某些氨基酸(如脯氨酸、甘氨酸、苏氨酸和天冬酰胺)的含量也许是相当高的,它们使 α 螺旋不稳定而形成一个伸展的链。氢键可在完全相同的这类多肽链之间形成,而不是在一条单个的多肽链内,如此形成的二级结构称为**β 折叠片层**(β-pleated sheet)。片层中的肽链可平行(相同方向)并列排列或交替地以相反方向(反平行)排列。球蛋白的某些区域也含有 β 片层(图 2-12)。β 片层也可相互堆积并由氢键(或其他弱的次级键)交联。

2.34　三级结构如何构成?

多肽链可自身折叠,并在其内部形成弱的键(如氢键、离子键)和强的二硫键;该二硫键可把**三级结构**(tertiary structure)稳定为一个精确而复杂的折叠结构。这些键是在不同氨基酸的侧链之间形成的。球形蛋白质是溶于水的并且形成大多数酶、抗体、蛋白质激素和转运蛋白

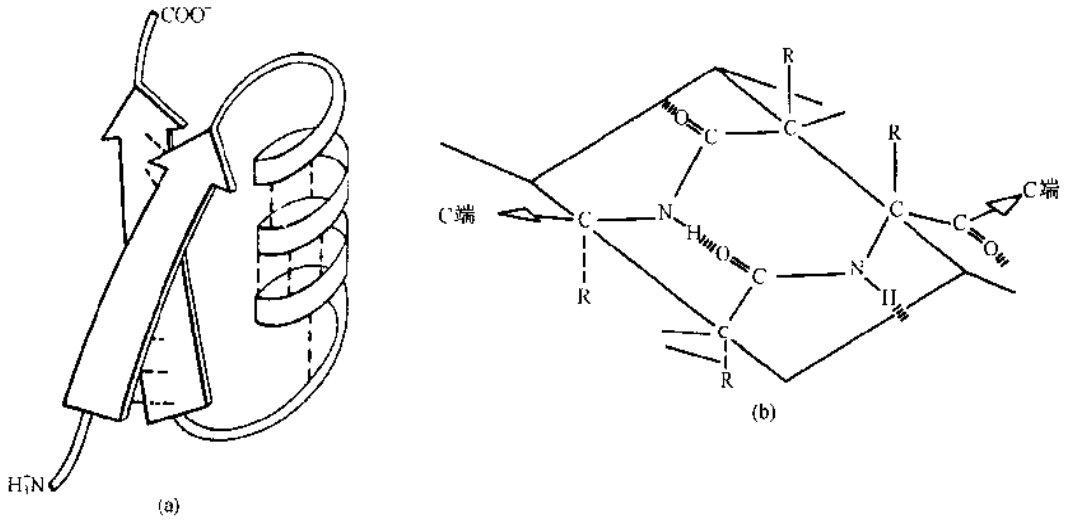


图 2-12　(a)蛋白质超二级 β-α-β 折叠单位的图示。β 片层结构区域以箭头表示;α 螺旋区域用螺旋结构表示。粗略的氢键位置以虚线表示。(b)反平行的 β 片层中相邻多肽链之间的氢键。(摘自 Schaum's Outline of theory and Problems of Biochemistry, P. W. Kuchel, G. B. et al., McGraw-Hill, 1988。)

质(如血红蛋白)等的紧密的特征形状。**同工酶**(isozyme)是一个酶的多种形式,它们催化相同的化学反应,但净电荷不同,或催化效率不同,或二者均不同。通常,同工酶在氨基酸序列上只是一个或几个残基不同。

2.35　什么是蛋白质的四级结构?

如果两个或多个多肽链自然结合,它们就形成**四级结构**(quaternary structure)(图 2-11d)。一个单个多肽链四级结构的蛋白质被称为**原聚体**(protomer)。许多蛋白质其正常发挥作用需一个以上的多肽链。例如,某些类型的胶原蛋白(结缔组织中常见的蛋白质)存在三个完全相同的多肽链(同源三聚体),它们相互缠绕形成三股螺旋。细菌色氨酸合成酶是一个异四聚体,由两个相同的 α 和两个相同的 β 多肽链构成。

2.36　哪些过程可降低或破坏蛋白质的功能?

只有天然三级或(和)四级结构状态的蛋白质才具有功能。蛋白质一级结构由结构基因决定。如果一个正常基因突变(变化)为另一种形式(等位基因),它可改变遗传密码,以致生成的蛋白质具有一个不同的氨基酸序列。在蛋白质中即使一个氨基酸发生变化也会改变或破坏蛋白质的功能(见第 6 章)。

蛋白酶(proteolytic enzyme)(消化蛋白质),又称为肽酶,裂解蛋白质一级结构的肽键,产生各种长度的片段,或把蛋白质完全降解成氨基酸。这个过程称为**蛋白质消化**(protein digestion)。与非末端氨基酸肽键结合的肽酶称为**内肽酶**(endopeptidase)。**外肽酶**(exopeptidase)有两类:氨基肽酶从多肽链的氨基末端裂解氨基酸;羧基肽酶从多肽链的羧基末端裂解氨基酸。

二级或较高级的蛋白质结构可通过多种方式被修饰,这称为**变性**(denaturation)。蛋白质可被热(鸡蛋中的卵清蛋白可被油炸而变性)、大的 pH 改变(向牛奶中加入柠檬汁可使牛奶变性并可沉淀酪蛋白)、化学处理(清洁剂处理可破坏球蛋白内的疏水相互作用)、或机械处理(搅动蛋清可使卵清蛋白变性)而变性。温度的小小改变至少可使某些蛋白质部分地变性,这些称为**温度敏感**(temperature-sensitive)蛋白质。有关这些蛋白质的突变称为温度敏感(ts)突变。这类突变在研究细菌和病毒遗传学方面是非常重要的。

2.37 在蛋白质中，某种氨基酸有优先选择的位置吗？

某些氨基酸解离状态的侧链易于与水相互作用(亲水作用)。疏水氨基酸含有不解离的侧链，它倾向于避开与水的相互作用。因此，当一个多肽链折叠为一个球形三级结构，带有亲水侧链的氨基酸倾向于在分子外部，而链的疏水片段倾向于在分子的内部。四级结构的蛋白质的多个多肽链通常被疏水相互作用("键合")而联结。单个多肽链的非极性基团相互聚集来避开水。氢键和/或离子键，与链内(在同一链内)和(或)链间(在链与链之间)二硫键共同参与形成蛋白质的四级结构。在蛋白质中没有发现其他类型的共价交联。

2.38 电泳是如何用于研究蛋白质的？

电泳(electrophoresis)是带电分子在电场中的移动。一个常见的电泳分离蛋白质混合物的方法是把样品注入半固体琼脂糖或淀粉胶板上的样品孔。这个胶板放在离子强度适宜的两端有电极的缓冲液中。把直流电加载于这个系统，带有最高净负电荷的蛋白质将通过胶以最快的速度向正电极(阳极)迁移；而带有最高净正电荷的蛋白质将通过胶以最快的速度向负电极(阴极)迁移。在特殊的缓冲液系统中，在其**等电点**(isoelectric point)上的蛋白质没有净电荷，因而不向任何一极迁移。一段时间以后(常为一个小时左右)，关闭电源，把胶板浸入蛋白质染色剂中。用脱色剂清除未结合的染料，在胶板上不同的位置可见蛋白质带。

例 2.3

血红蛋白是一个异四聚体分子，它从我们的肺部把氧运输到我们的组织。它由四个多肽链(两个相同的α链和两个相同的β链)构成。正常的血红蛋白的β链一个末端的第6位残基是谷氨酸。镰状细胞血红蛋白是一个变异蛋白质，它在该残基位置上的氨基酸是缬氨酸。酸性的谷氨酸具有负电荷；而缬氨酸是电中性的。因此，在电泳过程中，正常的血红蛋白向阳极的迁移要快于镰状细胞血红蛋白。

例 2.4

乳酸脱氢酶(LDH)催化丙酮酸转化为乳酸，或反向过程。它是由四个肽链构成的四聚体，它存在两个原聚体(M和H)的五种不同的组合：4M，3M：1H，2M：2H，1M：3H和4H。五种LDH同工酶可被电泳分离，因为，在适宜的缓冲液中，它们各自带有不同的净电荷。

核 酸

2.39 什么是核酸？核酸的两个主要类别是什么，以及它们被发现的顺序？这两种类型的核酸位于真核细胞的什么位置？

核酸，作为大分子的一个特殊种类，是在1868年被Friedrich Miescher发现的。他从脓细胞核中分离了一种物质，并称其为"核素"。此外，在鲑鱼精子头部也发现了相似的物质。后来，知道核素是一个碱性蛋白质(主要是组蛋白)和聚合成**脱氧核糖核酸**(deoxyribonucleic acid，DNA)的含磷酸的有机酸组成的混合物。现在已知：称为**核糖核酸**(ribonucleic acid，RNA)的第二种核酸多聚体存在于细胞核(在此它被合成)和细胞质(在此它参与蛋白质的合成)中。两种类型的核酸(DNA和RNA)是**核苷酸**(nucleotide)亚单位(单体)的线状不分支的多聚体。核苷酸的带负电荷的磷酸基团赋予该多聚体以酸性特征。

2.40　核苷酸的三种主要成分是什么？它们是如何联结的？

每个核苷酸由三部分构成：①一个五碳糖（戊糖）；②一个平面的、杂环的、含氮有机碱基；③一个磷酸基团（图 2－13）。每个核苷酸中的含氮碱基通过一个糖苷键与糖共价结合。磷酸基团也是共价地与糖结合。

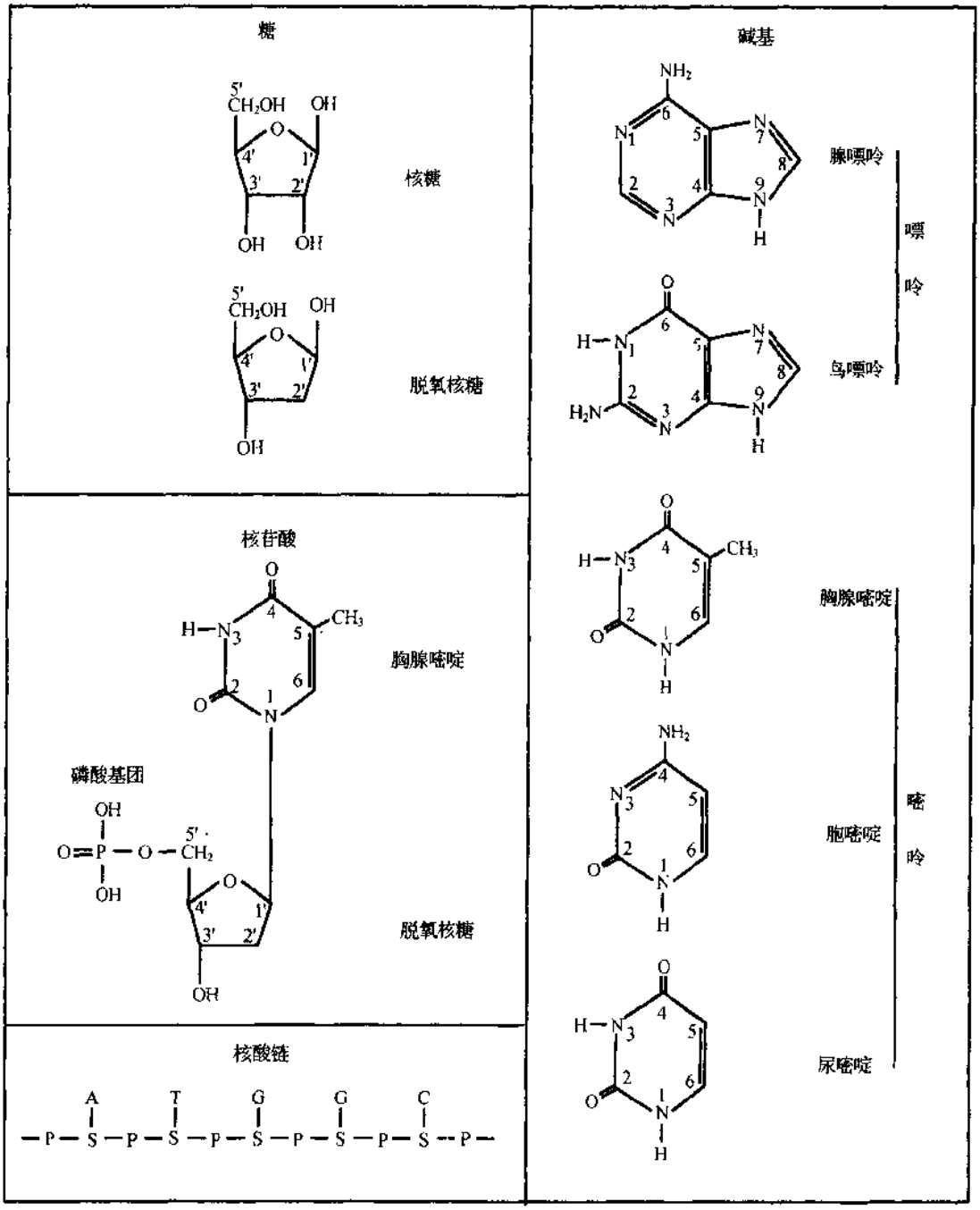


图 2－13　核酸的结构成分。糖上的碳原子被示以撇号来与碱基上的碳原子相区别。嘧啶上的＃1 氮原子和嘌呤上＃9 氮原子与核苷酸的核糖或脱氧核糖上的＃1′碳原子成键。

2.41　在核酸中有什么碱基？碱基如何分类？

核酸的有机碱基有两种基本的类型：嘧啶和嘌呤（图 2－13）。**嘧啶**（pyrimidine）是单环结构；**嘌呤**（purine）是双环结构。**腺嘌呤**（adenine，A）和**鸟嘌呤**（guanine，G）——二者存在于 DNA 和 RNA 中——只是其侧链不同。腺嘌呤有一个氨基（NH_2）与嘌呤环的＃6 位置（原子）

结合，因而，它被称为6-氨基嘌呤。鸟嘌呤在#6位置上有一个氧，在#2位置上有一个氨基，因而，它被称为6-氧-2-氨基嘌呤或2-氨基-6氧嘌呤。同样，**胞嘧啶**(cytosine，C)，存在于DNA和RNA中，是2-氧-4氨基嘧啶。第二个嘧啶，只存在于RNA中，即**尿嘧啶**(uracil，U)；它是2,4-二氧嘧啶。第三个嘧啶是**胸腺嘧啶**(thymine，T)，或5-甲基-2,4-二氧嘧啶，主要存在于DNA中(少数胸腺嘧啶碱基与其他"稀有碱基"一样，可存在于正常的转运RNA分子中；见问题2.59)。

2.42 在核苷酸中有哪类碳水化合物?

β-*D*-核糖(以下简称为核糖；图2-13)存在于RNA的核糖核苷酸单体中。DNA的脱氧核糖核苷酸单体中的戊糖与核糖不同，在其#2碳原子没有氧，因此，它被称为2-脱氧-β-*D*-核糖(以下简称为脱氧核糖)。

2.43 核苷与核苷酸有何不同?

核苷(nucleoside)是由一个碱基，嘧啶的N_1或嘌呤的N_9，与糖的1′碳通过糖苷键共价结合而构成。每个碱基的平面与糖的平面垂直，因此，在多聚体中这些碱基平面一个接一个地叠在一起，如同一叠硬币。含有核糖的核苷称为**核糖核苷**(ribonucleoside)；含有脱氧核糖的核苷称为**脱氧核糖核苷**(deoxyribonucleoside)。所有核苷的名称列于表2.3中。

表2.3 核苷名称

碱 基	核糖核苷	脱氧核糖核苷	碱 基	核糖核苷	脱氧核糖核苷
腺嘌呤	腺苷	脱氧腺苷	胸腺嘧啶	胸苷*	脱氧胸苷
鸟嘌呤	鸟苷	脱氧鸟苷	尿嘧啶	尿苷	—
胞嘧啶	胞苷	脱氧胞苷			

*在转运RNA中有少量存在。

核苷酸(nucleotide)由一个磷酸基团(PO_4)与一个核苷在其糖的5′碳共价结合而构成。含有核糖的核苷酸称为核糖核苷酸(ribonucleotide)；含有脱氧核糖的核苷酸称为脱氧核糖核苷酸(deoxyribonucleotide)。腺苷5′-磷酸又被称为**腺苷一磷酸**(adenosine monophosphate，AMP)或**腺苷酸**(adenylic acid)。如果**AMP**的核糖被脱氧核糖置换，该核苷酸就成为脱氧腺苷酸(dAMP)。核苷酸的名称列于表2.4中。

表2.4 核苷酸名称

碱 基	核糖核苷酸	脱氧核糖核苷酸	碱 基	核糖核苷酸	脱氧核糖核苷酸
腺嘌呤	腺苷酸，AMP	脱氧腺苷酸，dAMP	胸腺嘧啶	胸苷酸，TMP	脱氧胸苷酸，dTMP
鸟嘌呤	鸟苷酸，GMP	脱氧鸟苷酸，dGMP	尿嘧啶	尿苷酸，UMP	—
胞嘧啶	胞苷酸，CMP	脱氧胞苷酸，dCMP			

2.44 在同一多核苷酸链上哪类键联结相邻的核苷酸?

在DNA和RNA的每个多核苷酸链中，相邻的核苷酸是通过在一个核苷酸的3′碳和另一个核苷酸的5′碳之间形成磷酸二酯键共价相联的。DNA和RNA的多聚体是以DNA为模板在特殊酶和蛋白质的协助下合成的(第3章和第4章)。

2.45 在一个分子中链的数量方面，DNA和RNA有何不同?

所有的细胞RNA分子都是以DNA为模板合成的单链，而DNA是双链分子(双螺旋)。RNA链的某些区域在核糖体中通过互补碱基对之间的氢键可以联结，但是，它们不能像DNA分子那样全长配对。少数细菌病毒(如ΦX174和M13)其基因组是一个单链DNA。大多数具

有单链 RNA(ssRNA)基因组的病毒(如脊髓灰质炎病毒、流感病毒)在复制过程中可形成局部的双链;呼吸道肠道病毒有双链 RNA(dsRNA)基因组;反转录病毒(如人免疫缺陷病毒,HIV;第 10 章)具有 ssRNA 基因组,在复制过程中,以该单链 RNA 为模板合成一个 DNA 链,但是,该双链即刻分离。

2.46 在 RNA 或 DNA 分子的碱基之间形成哪类键?

核苷酸中的碱基之间以极特殊的方式自然形成氢键(比较强的共价磷酸二酯键和糖苷键弱的次级键)。DNA 一条链中的腺嘌呤与双螺旋互补链中的胸腺嘧啶形成两个氢键(A=T)。同样,在 DNA-RNA 杂合体中,及在 RNA-RNA 相互作用(在同一 RNA 链的不同部分之间,或不同的 RNA 链之间)的过程中,腺嘌呤与尿嘧啶形成两个氢键(A=U)。在 DNA 和 RNA 中,鸟嘌呤和胞嘧啶通常形成三个氢键(G≡C)。

2.47 DNA 和 RNA 分子的形状有何不同?

一条 RNA 分子的单链可自然地自身折叠形成局部的互补碱基对,使其在能量上处于最稳定的状态。RNA 分子可形成各种形状。然而,DNA 通常以同样的双螺旋形状存在,这两条互补链相互盘绕如同螺旋的楼梯。这楼梯的扶栏,或骨架由每条链中交替的糖-磷酸基团构成;这楼梯的踏板为碱基对。由于嘧啶总是与嘌呤配对,该双螺旋的宽度一律为 20Å。

2.48 DNA 和 RNA 分子大小比较的结果如何?

即使最大的 RNA 分子与大多数基因组 DNA 分子(其中某些分子含有超过 10^8 个的核苷酸)比起来也是非常小的。每个染色体含有一个单个 DNA 分子,它含有成千上万个基因,以及不编码 RNA 或蛋白质分子的区域。比较来看,在细菌中作为蛋白质合成模板(mRNA)的最大的 RNA 分子只编码 12 个左右的蛋白质。

2.49 DNA 和 RNA 分子起何作用?

在所有细胞中,DNA 是作为遗传分子在起作用。它储存制造 RNA 分子和蛋白质的遗传信息,并且,每一条链都可作为其自我复制的模板(见第 3 章)。细胞 RNA 分子不能作为其自我复制的模板。所有细胞 RNA 分子都是以 DNA 为模板合成的。除了在某些病毒中(在问题 2.45 中提及),RNA 分子携带遗传信息。DNA 并不直接作为蛋白质合成的模板。DNA 可被转录为信使 RNA(mRNA)分子,mRNA 具有模板的功能。其他种类的 RNA 分子包括:核糖体 RNA(rRNA),它是核糖体的结构成分;转运 RNA(tRNA),它协助 mRNA 翻译成蛋白质。

2.50 在真核细胞中,DNA 和 RNA 分子位于何处?

几乎所有的真核细胞 DNA 存在于线性的核染色体中。少量环状 DNA 存在于胞质细胞器中,如线粒体和叶绿体。所有 RNA 分子均是从 DNA 模板合成的。大多数 RNA 在细胞核内被合成和加工;然后,进入细胞质,在此,它们行使合成蛋白质的功能。

2.51 比较 DNA 和 RNA 分子的稳定性。

单链 RNA 多聚体相当快地被**核糖核酸酶**(ribonuclease)消化,除非它们拥有大量的链内碱基对(在某个局部区域形成"双链"),或除非它们与蛋白质广泛地形成复合物(如核糖体中的 RNA)。比较来看,DNA 分子是非常稳定的,这是由于它们的双链贯穿全长,以及通常在细胞核中存在修复 DNA 损伤的酶类。而在细胞核中或细胞质中都没有类似的酶类来修复 RNA 的损伤。也没有修复线粒体和叶绿体中核外 DNA 的酶类。由于 RNA 在以各种速率被降解,所以,它们必须被不断地更换。

2.52　什么是 Chargaff 规则？它的化学基础是什么？

由于 DNA 一条链上的 A 与互补链上的 T 形成两个氢键(同样，G 与 C 之间形成三个氢键)，所以，DNA 分子中嘌呤/嘧啶的比率，或(A+G)/(T+C)是一恒定的值。然而，这个比值在 RNA 分子中不是一个恒定的数值，这源于 RNA 的单链特征。在 DNA 的结构明了之前，Erwin Chargaff 发现：DNA 中，A 与 T 以等摩尔数存在；同样，G 等于 C。这些规律就是 **Chargaff 规则**。

2.53　在 1953 年，James Watson 和 Francis Crick 提出了一个 DNA 结构模型(图 2-14)。说明该模型的某些细节。

James Watson 和 Francis Crick 提出：以相反方向走行的双链 DNA 双螺旋。也就是说，如果一条链从 5′磷酸末端来读，糖-磷酸键将是重复的 5′磷酸-3′糖；其互补链以相同方向从 3′羟基末端来读，将是 3′糖-5′磷酸。注意图 2-15 中在两条链上糖指向相反的方向(如图中所示)。

通常 DNA 分子是右手双螺旋。配对的碱基依其平面堆积在分子的中心构成疏水的核。与碱基间的氢键协同，这些疏水作用共同维持分子的稳定。在中性 pH，任何碱基上没有电荷，但是，DNA 分子表面的磷酸基团被电离，使 DNA 分子带有净的负电荷。

双螺旋每 10 个碱基或 3.4nm(34Å)完成一圈。这个距离为螺旋的**螺距**(pitch)。因此，叠摞的碱基对的每层之间有 3.4Å；每层配对的碱基与其上下层相应，围绕着盘轴旋转 36°。双螺旋表面有一个**大沟**(major groove)和一个**小沟**(minor groove)，在此可发生特异核苷酸序列与特异的 **DNA 结合蛋白质**(DNA-binding protein)之间的相互作用。这种特异的 DNA-蛋白质的相互作用可活化("打开")或抑制("关闭")结合位点或其附近的基因(见第 4 章)。

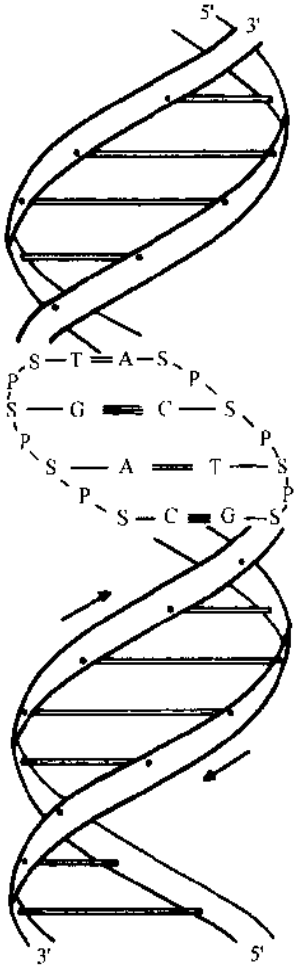


图 2-14　DNA 结构的 Watson-Crick 模型图示。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991。)

2.54　基于其功能有三种主要类型的 RNA 分子：tRNA，mRNA，rRNA。tRNA 分子的结构和功能介绍。

最小的 RNA 分子(长度为 75～80 个核苷酸或碱基)是**转运 RNA**(tRNA)。它们作为转运分子确定每个氨基酸在核糖体上的准确的排列位置以便聚合成多肽链。转运 RNA 是独一无二的，它含有除了正常碱基(A、U、G、C；见问题 2.57)以外的几个稀有的碱基。由于在生物蛋白质中有 20 种不同的氨基酸，所以，必须至少有 20 种不同的 tRNA 分子，每个氨基酸才能有一个特异的 tRNA 分子。细胞 RNA 总量的 10%～20%是 tRNA。

2.55　mRNA 分子结构与功能介绍。

指定蛋白质的氨基酸序列的遗传密码存在于 DNA 的脱氧核糖核苷酸的序列中(见第 5 章)，并且它可被转录为**信使 RNA**(mRNA)的互补核糖核苷酸序列。核糖体与 mRNA 结合并

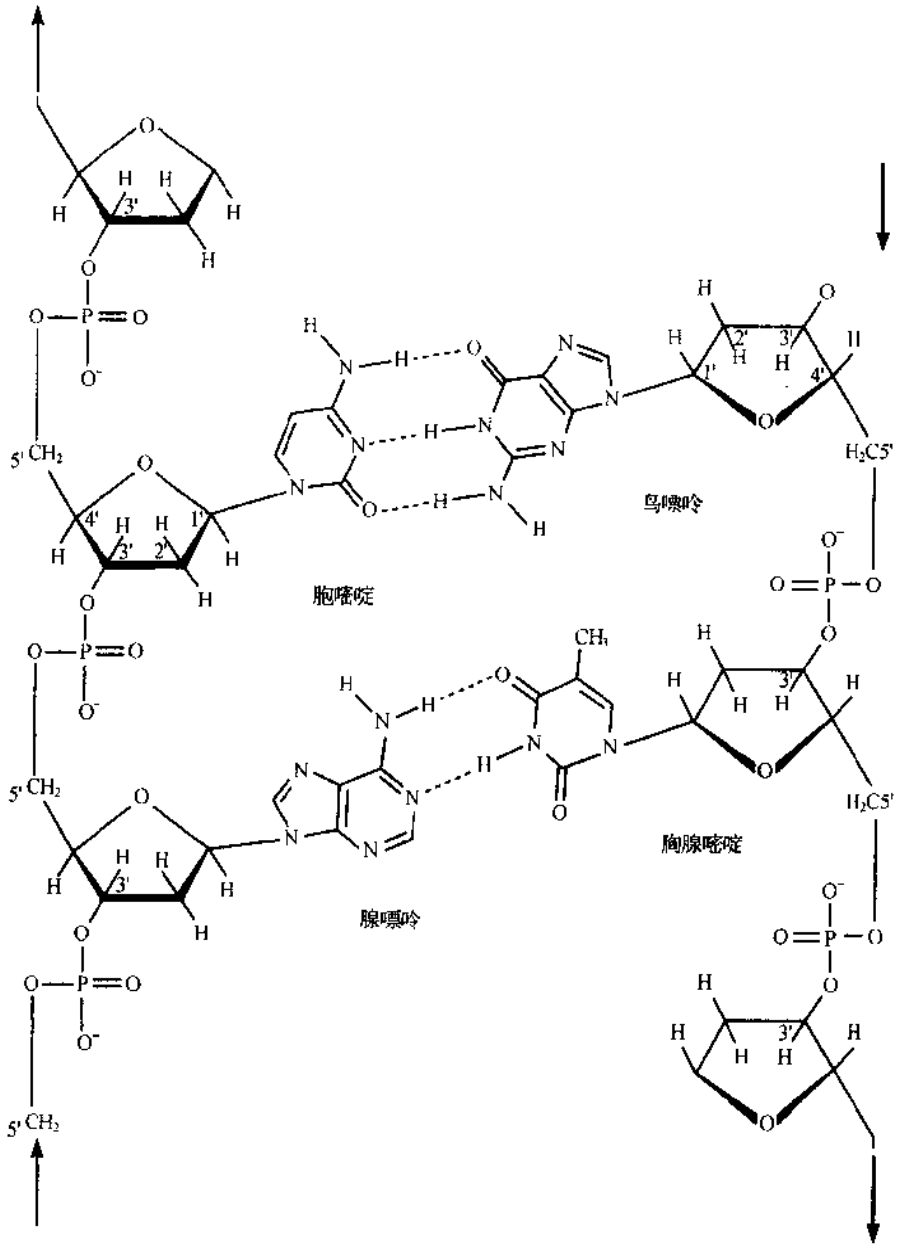


图 2-15　DNA 中的碱基对。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991。)

以自动收报机纸条那样的方式沿 mRNA 移动。活化的 tRNA，与其携带的氨基酸，阅读 mRNA密码，该密码指定氨基酸在核糖体上连接成多肽链的顺序。不同的 mRNA 的大小和碱基组成的差异较大。然而，除突变之外，由一个基因转录的所有 mRNA 分子的组成和大小是完全相同的。

2.56　rRNA 分子结构与功能介绍。

核糖体 RNA(rRNA)是核糖体的结构成分。在细菌中有三种分子质量的 rRNA 分子：5S、16S 和 23S。这三类的每一类，所有 rRNA 分子在分子结构上是完全相同的。关系密切的生物物种的该碱基序列是性同的或非常相似；在有机体之间遗传关系越远，该碱基序列越倾向于不同。分子大小符号 S 表示 Svedberg 单位，这是一个在超速离心过程中分子移动速度的度量标准。(T. Svedberg 在 1923 年发明超速离心。)一般来讲，S 值越大，分子质量越高，尽管分子的几何学或形状也与其有关。在真核生物中存在四种分子质量的 rRNA 分子：5S、5.8S、17～

18S、25～28S。这些 rRNA 分子与 tRNA、mRNA 和约 50 个核糖体蛋白质相互作用完成蛋白质的合成。

2.57　在核酸中什么是"稀有碱基"？它们如何成为核酸的一部分？它们具有什么功能？

在 DNA 中除了腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或胞嘧啶以外的任何碱基都被认为是稀有的或罕见的。同样，在 RNA 分子中除了腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶或胞嘧啶以外的任何碱基也是如此。稀有碱基是在聚合前或后通过对核苷酸的酶促催化修饰而形成的。下面是两个例子。

例 2.5

噬菌体(细菌病毒)T4 的 DNA 含有 5－羟甲基胞嘧啶(HMC)而不是胞嘧啶。通过噬菌体编码酶的作用，在它们被聚合为噬菌体基因组之前，胞嘧啶碱基被加上一个甲基。噬菌体编的另一个酶来消化含有胞嘧啶而不是 HMC 的宿主 DNA。噬菌体 T4 使用这些宿主的降解产物来合成自己的 DNA。通过胞嘧啶的甲基化，噬菌体 T4 保护自己的 DNA 免于被用于消化宿主 DNA 的同一个酶所攻击。在噬菌体 DNA 复制以后，两个噬菌体酶把 HMC 碱基糖基化，从而保护噬菌体 DNA 免于被可攻击未修饰的 HMC 碱基的宿主限制性内切核酸酶所消化。

例 2.6

通常 mRNA 和 rRNA 不含任何稀有碱基。然而，通常所有的 tRNA 都含有少量的被修饰的碱基。转运 RNA 是在正常核苷酸被 3′－5′磷酸二酯键连接在一起以后通过特殊的酶而被修饰的。在鸟苷原子 1 上加一个甲基形成稀有的核糖核苷 1－甲基鸟苷。在 tRNA 中的一些稀有碱基示于图 2－16 中。大多数稀有碱基似乎被集中在 tRNA 分子的环中，或不配对的区域。这些不配对的区域可与 rRNA 或 mRNA 中其他区域的碱基配对。这些稀有碱基的主要功能尚不清楚，但是，其中一些显示出它们参与 tRNA 特异性的调控。

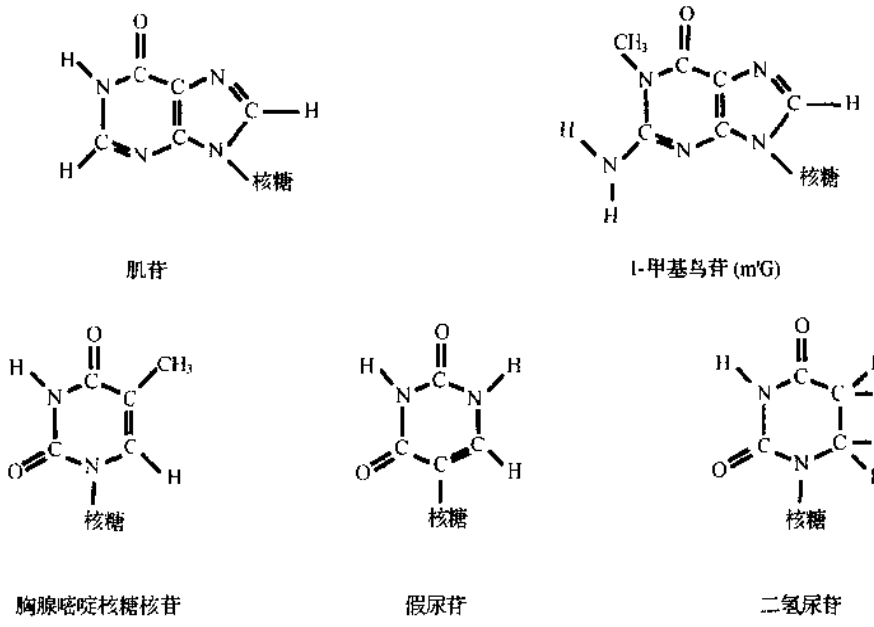


图 2－16　tRNA 分子中的一些被修饰的碱基的结构。

2.58 在单链 tRNA 分子中，通过核苷酸链自身折叠和充分扩大碱基互补配对的区域形成了哪类二维结构模型？

形成了一个所谓的三叶草结构，如图 2－17 所示。此种结构的 tRNA 是其活性形式，在其 3′末端腺嘌呤上承载了其自己的氨基酸(丙氨酸)。所有的 tRNA 都具有这种同样的基本的三叶草结构。形成链内碱基对的区域称为**干**(stem)，而不配对的区域称为**环**(loop)。编码不同氨基酸的转运 RNA 其各自的核苷酸序列有所不同，在含有被称为**反密码子**(anticoden)的核糖核苷酸三联体的中环中尤为不同。每类氨基酸至少有一类携有特异反密码子的同源 tRNA(见第 5 章)。

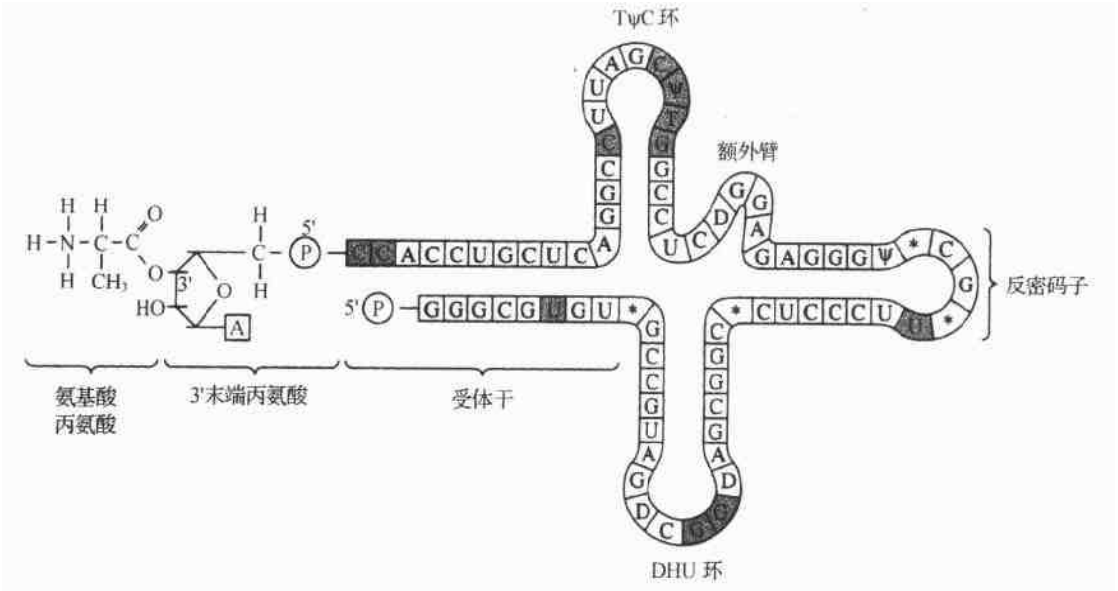


图 2－17 酵母丙氨酸转运 RNA 的"三叶草"结构。在 tRNA 分子中有几个稀有碱基(*)(见图 2－16)；假尿苷(Ψ)是其中之一，它位于距 3′末端最近的环中，该环称为 TψC 环。距 5′末端最近的环称为 DHU 环，这是由于它含有另一个稀有碱基，二氢尿苷(D)。所有的 tRNA 分子均以 CCA3′为结尾。图中阴影部分表示在所有种类的 tRNA 中该部位的碱基完全相同。该 tRNA 分子已被氨酰 tRNA 合成酶活化，即通过氨酰键丙氨酸结合在 tRNA3′末端的丙氨酸上。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991。)

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 需要模板合成的大分子是(　)。 (a)碳水化合物和脂类 (b)碳水化合物和蛋白质 (c)蛋白质和核酸 (d)碳水化合物、蛋白质和核酸 (e)脂类、蛋白质和核酸
2. 其单体之间仅以非共价键相联的大分子是(　)。 (a)仅为碳水化合物 (b)仅为脂类 (c)碳水化合物和脂类 (d)脂类和核酸 (e)以上没有
3. 在敏感细菌中青霉素作为抗生素而起作用是通过干扰(　)。 (a)细胞壁形成 (b)蛋白质合成 (c)Krebs 循环 (d)电子传递链 (e)DNA 合成
4. 生物合成性激素和肾上腺皮质激素基本前体的物质是(　)。 (a)肌醇 (b)鞘磷脂 (c)卵磷脂 (d)磷脂酰胆碱 (e)胆固醇
5. 不存在于 DNA 中的核苷酸碱基是(　)。 (a)腺嘌呤 (b)鸟嘌呤 (c)胞嘧啶 (d)尿嘧啶 (e)胸腺嘧啶

6. 除了下列(　)方面相同以外,RNA 分子与 DNA 分子在所有方面都不同。(a)嘌呤种类 (b)嘧啶种类　(c)每分子链的数量　(d)糖的类型　(e)形状
7. 以三叶草模型表示的核酸种类是(　)。　(a)线粒体 DNA　(b)染色体 DNA　(c)rRNA (d)tRNA　(e)mRNA
8. 下列(　)不是生理条件下大多数 DNA 的特征。(a)A 通过两个氢键与 T 配对　(b)互补链的极性相反　(c)3.4Å 螺距　(d)20Å 直径　(e)螺旋每圈 10 个碱基对
9. 腺苷是(　)。　(a)含氮有机碱基　(b)核糖核苷　(c)核糖核苷酸　(d)脱氧核糖核苷酸 (e)以上没有
10. 孔(道)蛋白的功能类型是(　)。　(a)细胞骨架　(b)基因活化　(c)结构　(d)自我识别 (e)运输
11. 含有亚氨基并影响 α 螺旋形成的氨基酸是(　)。　(a)苏氨酸　(b)苯丙氨酸　(c)丝氨酸　(d)甘氨酸　(e)脯氨酸
12. DNA 链极性的表示方式为(　)。　(a)3′-5′　(b)1′-6′　(c)1′-3′　(d)2′-3′　(e)以上没有

是非题　正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 细菌细胞壁含有纤维素。
2. 大多数细菌细胞壁含有碳水化合物和氨基酸。
3. 只有分支的生物大分子是多糖。
4. 淀粉、纤维素和糖原都是同聚多糖。
5. 革兰氏阳性菌具有内膜和外膜。
6. R 型肺炎球菌没有细胞壁。
7. 外源凝集素是作为细胞识别标记的碳水化合物分子。
8. 热可把蛋白质消化为氨基酸。
9. α 螺旋是蛋白质三级结构的一种。
10. 没有任何特殊类型的氨基酸主要位于球蛋白的内部或表面。
11. 葡萄糖是驱动生物化学反应的主要分子。
12. DNA 双螺旋中嘌呤/嘧啶的比值为 1。

匹配题　把 A 栏中的项目与 B 栏中的项目配对,使其密切相关。B 栏中每个项目只使用一次。

A　栏	B　栏
1. 肌动蛋白	A. 催化剂
2. 粘连蛋白	B. 免疫
3. 胶原蛋白	C. 激素
4. DNA 合成酶	D. 刺激转录
5. 半乳糖苷通透酶	E. 收缩,运动
6. 胰高血糖素	F. 跨膜运输
7. 视紫红质	G. 电子传递链
8. 补体	H. 细胞锚定
9. 细胞色素	I. 光感受器
10. 分解代谢活化蛋白	J. 结缔组织

术语　除非特殊指明,每个答案只为一个词。

1. 多糖的单体之间的共价联结。(两个词)
2. 革兰氏阴性菌内外膜之间的区域。(两个词)

3. 任何没有细胞壁的细菌。
4. 与其毒性有关的包绕链球菌细胞壁的多糖外被。
5. 那些在动物细胞质膜中富含的，但在细胞器膜中较少或没有的，并在大多数原核生物中不存在的脂类。
6. 细菌细胞壁中的重复单位，由四肽和糖成对构成。
7. 多肽链单体之间的酰胺共价联接。（两个词）
8. RNA 链的单体。
9. 在双螺旋 DNA 分子中，腺嘌呤与胸腺嘧啶等摩尔量存在；鸟嘌呤与胞嘧啶也是同样。这些规律称为什么？（两个词）
10. 氨基酸与其共价结合的 RNA 分子。
11. 带电分子在电场中的迁移。
12. 在同一 DNA 或 RNA 链内相邻核苷酸结合的共价键。（两个词）

答　案

选择题

1. c 2. b 3. a 4. e 5. d 6. a 7. d 8. c 9. b 10. e 11. e 12. a

是非题

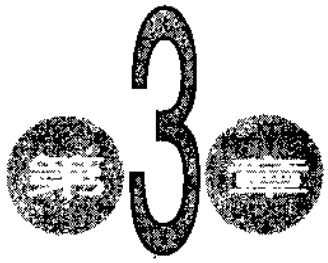
1. F(植物细胞壁) 2. T 3. F(细菌细胞壁中的肽聚糖也有分支) 4. T 5. F(革兰氏阴性) 6. F(无荚膜) 7. F(外源凝集素结合有碳水化合物的蛋白质) 8. F(使 2,3,4 级结构变性) 9. F(2 级结构) 10. F(外部是亲水；而内部疏水) 11. F(腺苷三磷酸，ATP) 12. T

匹配题

1. E 2. H 3. J 4. A 5. F 6. C 7. I 8. B 9. G 10. D

术语

1. 糖苷键 2. 透明质间隙 3. 原生质体或 L 型 4. 荚膜 5. 胆固醇 6. 肽聚糖 7. 肽键 8. 核糖核苷酸 9. Chargaff 规则 10. 转运(tRNA) 11. 电泳 12. 磷酸二酯键



染色体：结构、复制和重组

导　言

第一次研究动物和植物细胞核的细胞学家们发现了一种易于被某种染料着色的物质。该核物质即为现在所知**染色质**(chromatin)。细胞学家观察到：在有丝分裂和减数分裂的过程中染色质形成片段并凝缩成显微镜下所见的杆状体，即现在所知的**染色体**(chromosome)。染色质和由其形成的染色体是由大量的蛋白质和核酸(即现在所知的**2′脱氧核糖核酸**或**DNA**)构成。异常染色体和异常的遗传性状的分析比较佐证了这样的假说：遗传信息存在于染色体中。

1940年初Oswald Avery和他的同事们的实验强烈地提示：DNA携带遗传信息。然而，当时这种思想并没有被接受。许多科学家相信：作为控制一个有机体遗传的分子，DNA分子有些太简单了。他们更倾向于蛋白质作为遗传信息的载体，这是由于在染色体中有许多蛋白质并且蛋白质的种类也非常多。1953年，James Watson和Francis Crick提出了一个DNA结构的模型以及解释了它是如何复制的；此后不久，他们又提出了仅DNA本身就可决定一个有机体的特征。到了60年代中叶，为数众多的科学家得到了最终的结论：仅DNA本身就可携带遗传信息，而且DNA特异的核苷酸序列，称为**基因**(gene)，编码构建和维持细胞所需的RNA和蛋白质。

最初，染色体这个词有一个严格的定义：它是指在有丝分裂和减数分裂过程中由染色质形成的任何显微镜下可见的杆状体。但是，随着时间的推移，这个术语也用来描述病毒、细菌和细胞器(线粒体和叶绿体)中的遗传信息的携带者。这一章将介绍在原核和真核生物中的染色体最基本的类型。并且讨论DNA的复制和重组。

染色体结构

3.1　细菌中染色体是如何构成的?

所有必需的细菌基因存在于细胞质中的单个环状双链DNA(dsDNA)染色体中。细菌染色体与质膜相附着。细**菌染色体**(bacterial chromosome)依其种类不同可编码1000个或5000个蛋白质。除了细菌染色体以外，还可有一个或多个较小的染色体，称为质粒，它一般指定20～100个蛋白质。质粒是环状双链DNA分子，它可与或不与质膜附着。质粒编码的大多数或全部蛋白质在正常环境条件下并不是细胞生存所绝对必需的。许多质粒编码的蛋白质使其把一些遗传信息向其他细胞转移成为可能，并促进稀有化合物的代谢，或使细胞可抵抗某些化学物质或重金属。

由DNA、蛋白质和RNA构成的细菌染色体是高度浓缩的。它不仅通过**拓扑异构酶**(topoisomerase)形成超螺旋，并且，环绕在由RNA和蛋白质形成的"核"的内外。许多DNA的负电荷被多胺[如**精胺**(spermine)和**亚精胺**(spermidine)]和DNA缠绕着的碱性蛋白质所中和。通过柔和地裂解细菌细胞得到的DNA外观呈串珠状。虽然细菌染色体也是高度浓缩的，但是，在光学显微镜下它们不能被看到。在透射电子显微镜下，细菌染色体的外观与非分裂的真核细胞核内的**染色质**(chiromatin)非常相像。

3.2 真核染色体的一些显著特征是什么?

真核生物的基因分布在许多染色体中;一般来讲这些染色体在大小上有很大不同。与细菌染色体(由环状 DNA 分子构成)比较,真核染色体含有线性双链 DNA。DNA 和多种类型的相关蛋白质构成了染色体。真核染色体的结构成分中并没有 RNA。

例 3.1

常用于制造乙醇饮料的单倍体单细胞酵母,其基因分布在 4 个染色体当中;单倍体的人类细胞有 23 个染色体,而单倍体的鲤鱼细胞有 52 个染色体。

例 3.2.

男性人类细胞中最小的染色体是 Y 染色体。它的大小是最大的一号染色体的 1/5。

真核染色体可被不同程度的浓缩。最低的浓缩结构是**伸展的核小体形式**(extended nucleosome form)(图 3-1a)。核小体是由近乎球状的组蛋白形成的**八聚体**(histone)(H2a、H2b、H3 和 H4)和在其外围绕两圈的 DNA 所构成。DNA 的约 200 个碱基对围绕着由组蛋白构成的球形体,并有 DNA 的 50 个碱基对连接相邻的核小体。虽然真核染色体伸展的核小体形式与细菌当中看到的串珠样的结构相似,但是这些结构可能并不相同。伸展的核小体形式存在于染色体将被复制的区域,或存在于与 RNA 分子合成有关的区域。

真核 DNA 更紧密的状态是**螺线管形式**(solenoid form)(图 3-1b)。与核小体结合的**组蛋白 H1** 诱导其组装成 6 个核小体的环,并且这些环组成圆筒状**螺线管**结构。在**分裂间期**大多数真核染色体以螺线管形式存在。进行复制或被表达的(转录为 RNA 分子)这些部分去解凝成为伸展的核小体形式。记住,DNA 的复制发生在间期的 S 阶段。基因表达发生在间期的所有阶段(G_1、S 和 G_2)。那些不进行增殖的(进入细胞周期)真核细胞被认为是在 G_0 阶段,并且与间期细胞相似。在间期细胞核中看到的染色质是由绝大多数以螺线管形式存在的 DNA 构成。

DNA 最紧密的状态是环状的螺线管形式(图 3-1c)。DNA 结合蛋白促进螺线管在支架蛋白中心核前后形成环状。在一些真核生物中螺线管的 18 个环组成了一个盘状结构。染色体凝聚为数百个叠在一起的盘状结构。在有丝分裂和减数分裂的过程中,可观察到环状的螺线管形式。由于许多长的染色体必须在细胞内移动,并且在移动过程中可能被牵扯,所以染色体的浓缩是必要的。

3.3 染色体浓缩的程度在调控 DNA 复制和基因表达(转录)中起作用吗?

真核生物中的 DNA 复制和基因表达受染色体浓缩程度的影响。复制和基因表达可被高度浓缩的染色体抑制,这显然是由于合成 DNA 和 RNA 的酶以及复制和基因表达所必须的辅助蛋白质不能与浓缩的 DNA 结合。另一方面,伸展的核小体形式中的去凝聚 DNA 能正确的与合成新 DNA 或表达基因有关的酶类相结合。

3.4 什么是常染色质和异染色质?在 DNA 复制和基因表达的过程中,它们的重要性是什么?

异染色质(heterochromatin)是高度浓缩的 DNA,除了在 DNA 复制过程中它被去凝聚,异染色质在整个细胞周期中保持浓缩的螺线管形式。因其浓缩状态与有丝分裂染色体相似,所以,在间期可用光学显微镜观察到异染色质。与异染色体有关的大多数基因不被表达,这是

由于 DNA 处于浓缩状态。比较来看，**常染色质**(euchromatin)是去凝聚的 DNA，它以螺线管形式或伸展的核小体形式存在。常染色质是“真”染色质，在光学显微镜下它显现分散的颗粒状。伸展的核小体形式中的常染色质可以被复制和表达，而在螺线管形式中的却不能。

在哺乳动物中，雌性动物的细胞有两个 X 染色体(XX)，而雄性动物的细胞有一个 X 染色体(XY)。雌性细胞的其中一条 X 染色体，一般以异染色质形式存在。高浓缩的 X 染色体常被称为 **Barr 体**(以发现它的科学家名字命名)。由于像大多数染色体那样高度浓缩，Barr 体上的基因几乎不被表达。对于细胞具有一个高浓缩 X 染色体和一个去浓缩的 X 染色体，一个可能的解释是，这是为了保持雌性细胞中基因产物与雄性细胞同样的平衡状态。

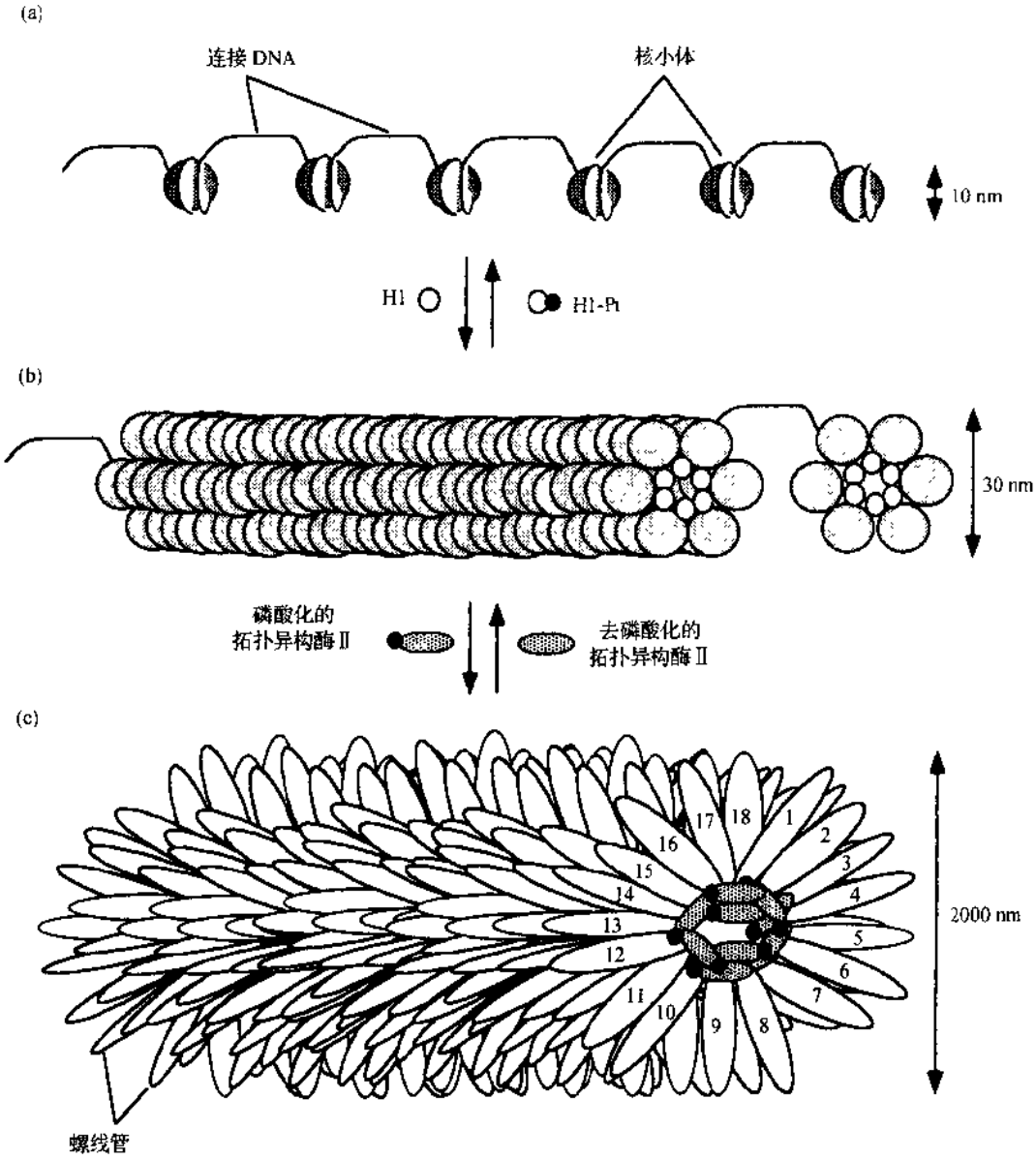


图 3-1　真核染色体的不同形式。(a)伸展的核小体形式：组蛋白 H2a、H2b、H3 和 H4 构成由 dsDNA 缠绕的一个八聚体。组蛋白核及其结合的 DNA 所构成的结构被称为核小体。图中可见 6 个核小体被 dsDNA 链(“连接者”)连接；(b)螺线管形式：与核小体结合的组蛋白 H1 诱导 6 个核小体形成一个环，这个环联合形成一个螺线管。组蛋白 H1 的磷酸化把螺线管分解成为一个伸展的核小体形式；(c)环状的螺线管形式：拓扑异构酶 II(和其他蛋白质，图中未显示)形成一个螺线管结合的支架。与支架结合的螺线管形成约 18 个环的圆盘状结构。这些圆盘状结构叠加形成一个在光学显微镜下可见的染色体。拓扑异构酶 II(和其他蛋白质)的去磷酸化会引起支架分解并引起染色体去凝聚成为螺线管形式。

3.5 什么是着丝粒？它与动粒有何差别？

着丝粒是有丝分裂或减数分裂中的染色体高度压缩的一个区域，在此纺锤体纤维与其结合(图 3-2a)。复杂的 DNA 序列构成了着丝粒(图 3-2b)。发育的面包酵母(啤酒酵母)的着丝粒长度约为 220 个碱基对，并且通过多种与剩余 DNA 结合组蛋白有明显区别的蛋白质共同保护其免受核酸内切酶的消化。虽然着丝粒区域通过特殊的蛋白质保护其免受限制性内切核酸酶的攻击，但该区域没有核小体而且被去凝聚。这似乎说明了在有丝分裂和减数分裂过程中着丝粒区域被高度缩窄原因。着丝粒的 220 对碱基序列两侧是限制性内切核酸酶敏感位点，该位点的功能也许是促进 DNA 的断裂，有助于染色单体在后期的相互分离(图 3-2c)。限制性内切核酸酶是一种在核酸内特殊位点进行切割的酶类。

啤酒酵母的着丝粒含有一个约 120 个碱基对的核心区域，它由三个区域构成：一个是在后期染色单体分离所必需的(8 个碱基对长)；第二个由超过 90%的 A=T 碱基对构成，它是微管结合和染色单体分离所必需的(约 85 个碱基对)；第三个是微管与动粒结合所必需的。

对不同有机体的着丝粒结构及其与微管的相互作用的分析，提示着丝粒有显著的多样性。

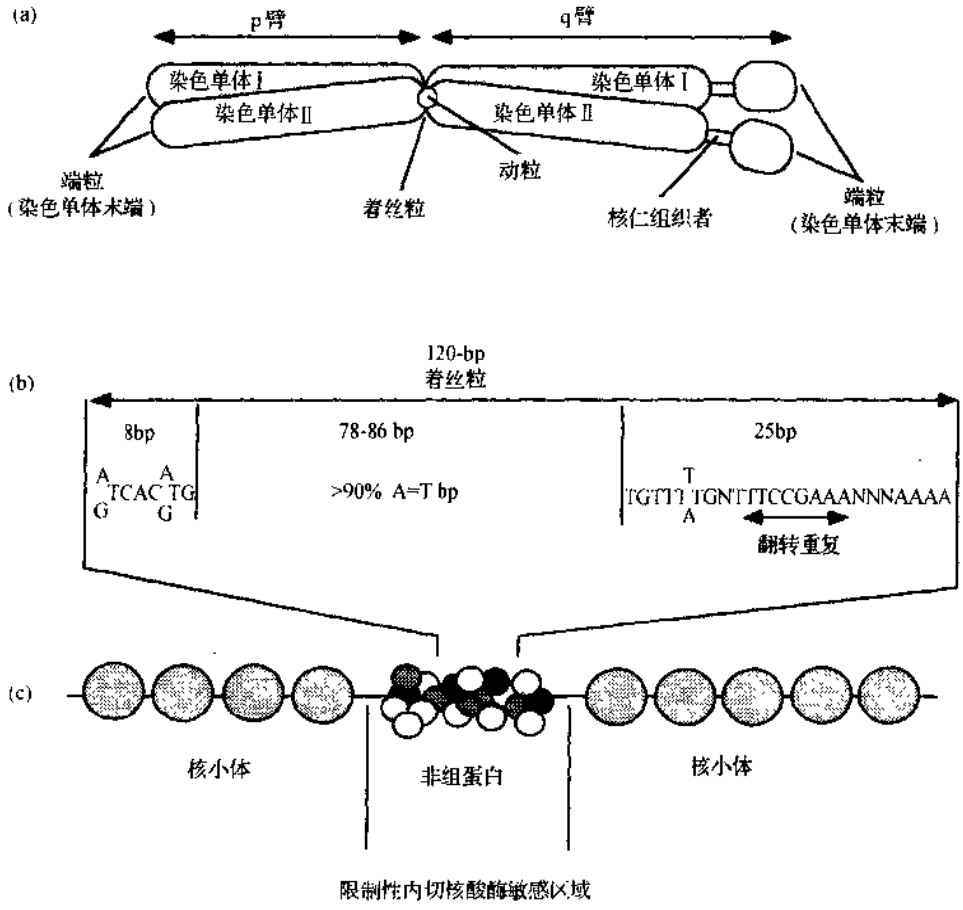


图 3-2　真核染色体相关结构。(a)完全凝缩的中期染色体：形成动粒的缩窄区域称为着丝粒。纺锤体纤维与动粒附着。含有 rRNA 基因的长的缩窄区域(每个染色单体右端)被称为核仁组织者。染色单体(和染色体)的末端称为端粒。染色单体的长臂和短臂分别称为 p 臂和 q 臂。(b)酵母的着丝粒：着丝粒长约 120 碱基对(bp)，主要由 A=T bp 构成。8bp 区域中的突变对微管的附着没有影响，但可干扰染色单体的分离。25bp 区域碱基序列的变化可干扰微管的附着。(c)着丝粒相关蛋白质：着丝粒与保护其免受限制性内切核酸酶消化的非组蛋白形成复合物。着丝粒两端的 DNA 片段对限制性内切核酸酶的消化较为敏感，提示它们没有蛋白质保护。限制性内切核酸酶敏感区域两侧的 DNA 与组蛋白结合形成核小体。

☞ **例 3.3**

分裂生殖酵母(裂殖酵母)的着丝粒区域非常大,含有碱基对数量在 40 000 和 80 000 之间。这些着丝粒由大量的重复的序列构成并组成多种联合体。至少有 4 种不同的序列在中心核序列周围区域被鉴别。

☞ **例 3.4**

发育的酵母(啤酒酵母)的着丝粒区域不能与多细胞真核生物的微管相互作用。

与有丝分裂和减数分裂着丝粒区域有关的蛋白质复合物称为动粒(图 3-2a)。动粒与纺锤体微管束结合;它们只能在电子显微镜的帮助下才被看到。动粒的变化很大,在许多动物细胞中,动粒是约 2μm 直径(它形成每个染色单体的一个侧面)的盘状结构。这些动粒有 3 个明显不同的层:一个 40～60nm 内层与着丝粒相关蛋白接触;一个 25～30nm 的中心层,其功能不清楚;一个 40～60nm 的外层,它与微管的末端相连。微管贯穿这三层动粒盘。通过用咖啡因处理间期(G_1、S 和 G_2)细胞可使动粒从染色体分离。在大多数较高级的真核生物中,有 15～35个微管与一个动粒的外层相连。

☞ **例 3.5**

人类动粒约与 15 个微管结合,而酵母的动粒只与一个微管结合。

较高等植物中的动粒是球形结构,它围绕着每个染色单体的着丝粒而形成。在这些动粒中已发现一些轮廓不清的层。在许多真核生物(原生动物及一些菌类和昆虫)中,由于蛋白质太稀少或在制备过程中被裂解,所以没有看到动粒。

3.6　着丝粒和动粒的功能是什么?

在细胞增殖时,着丝粒及其相连的动粒对于真核染色体的分布和维持是必需的。动粒不仅仅在前期与微管结合,还在后期促进微管的解聚。该活性牵引染色单体(在此称为子代染色体)移向两极。

3.7　在增殖的真核细胞中,对于 DNA 片段的增殖、维持和正确分布需要什么特殊的 DNA 序列?

任何 DNA 片段增殖和维持需要一个或多个**复制位点的起点**(origin of replication site, *oriR*)和特殊的末端,即**端粒**(telomere)。复制位置起点是特殊的 DNA 序列,在此起始 DNA 的复制。端粒保护线性染色体的末端,以免被细胞内从末端降解核酸的酶对其降解。这些酶称为外切核酸酶。在细胞周期中,如果它们具有着丝粒,DNA 分子就能被分布进子代细胞。(图 3-2)。

通过加上 *oriR* 位点、端粒和着丝粒,任何 DNA 片段都可被构建成人工染色体。大量的酵母人工染色体(YAC)以此方式被构建。这些人工染色体最小的尺寸似乎约为 100 000 碱基对。

3.8　单个真核染色体如何被识别?

在有丝分裂(和减数分裂)的过程中,多细胞生物细胞中染色体被最大限度地凝缩并在光学显微镜下可以观察到(图 3-1c)。每类染色体具有其特征性长度、着丝粒位置以及染色(条带)图谱。如果着丝粒位于中部或靠近中部,这个染色体就被称为**中间着丝粒**(metacentric)染

色体。一个染色体的着丝粒位于中部和末端之间，就被称为**亚中间着丝粒**(submetacentric)或**近端着丝粒**(acrocentric)染色体。如果着丝粒位于末端或非常接近末端，就被称为**端着丝粒**(telocentric)染色体。与着丝粒位置相关的染色体的长臂和短臂分别称为 p 臂和 q 臂。

特殊的染色技术显示：每个染色体都有一个特殊的明暗**条带**(band)相间的图谱。同源染色体具有相同的条带图谱，而非同源染色体具有非常不同的图谱。因此，长度大致相同并其着丝粒位置也相似的非同源染色体可通过它们不同的条带图谱被区别。

3.9 真核生物和原核生物存在的 DNA 总量比较。

虽然许多多细胞生物每细胞 DNA 的量比单细胞生物和细菌要多 100 倍到 1000 倍，但是，它们并不具有与其全部额外 DNA 相应的更多的基因数量。“较高级”真核生物中 DNA 的 90%～95%是不表达为蛋白质或 RNA 的。这些非编码 DNA 的大多数是由随机碱基对重复成百上千次的短片段构成，因此，它们被称为**重复序列 DNA**(repetitive DNA)。非编码的重复序列 DNA 的一小部分构成了染色体的着丝粒和端粒区域。剩余的非编码 DNA 由位于基因之间的**间隔 DNA**(spacer DNA)构成。编码信使 RNA 的 90%～95%的 DNA 由基因和位于其间的**内含子**(intron)构成。内含于把基因编码区域，即**外显子**(exon)，相互隔开。**初级转录物**(primary transcript，pre-RNA)中的内含子被从 pre-RNA 中切除，外显子相互拼接形成 mRNA。一般认为，DNA 中的内含子序列和非编码 DNA 可分别促进在基因之间的和在基因内的重组。

☞ 例 3.6

细菌基因组大小范围是：10^6 到 3×10^7 碱基对，而一倍体的面包酵母在 8 个染色体中共有 7×10^7 碱基对。比较来看，二倍体的人类细胞在 46 个染色体中共有 5.6×10^9 碱基对，而蛙(*Rana pipiens*)在 26 个染色体中共有 46×10^9 碱基对。这些蛙细胞含有的 DNA 量约比人类多 10 倍。

3.10 什么是灯刷染色体？它的功能是什么？

灯刷染色体(lampbrush chromosome)存在于处于有丝分裂前期 I 中双线期的未成熟的动物卵母细胞(正在发育的生殖细胞)中。灯刷染色体首先在两栖动物未成熟卵母细胞被研究，如此命名，是由于它们与在 19 世纪末使用的清洁油灯烟筒的刷子较为相似。前期 I 可分为 5 个阶段：**细线期**(leptonema)，同源染色体非常细并仍为很好地分散状态；**偶线期**(zegonema)，同源染色体已相互配对(联会)成为二价的状态；**粗线期**(pachynema)，四联体中全部四个染色单体变厚以至在光学显微镜下可以被看到，并且，联会复合体(在透射电子显微镜下可见)促进每个染色体中的一个染色单体之间的交换；**双线期**(diplonema)，同源染色体相互拉开以及在染色单体之间进行交换(交叉)，并在光学显微镜下成为可见；**终变期**(diakinesis)，同源染色体已被分开，所有剩余的交叉均在染色体的末端。当作为形容词来使用的时候，这四个阶段的名字有不同的拼写方法，如 leptonema 可与 leptotene stage 互换。

在双线期，从灯刷染色体 RNA 分子的广泛转录引起 DNA 以伸展的核小体形式构成环。DNA 环因大量的新生 RNA 转录物而增厚，使其在光学显微镜下成为可见。每个联会对(二价体)的染色体由两个染色单体构成，并有与每个被转录位点相关的两个环。在双线期生成了高浓度的 RNA 转录物并被储存，为卵母细胞受精后合于快速分裂提供所需的 mRNA，tRNA 和 5S rRNA。在前期 I 某些两栖动物的卵母细胞中，已发现了 20 000 个不同的信息 RNA 分子。此外，大量需要的某些蛋白质(如组蛋白、核糖体蛋白和卵黄蛋白)也在双线期被生成。

编码核糖体 RNA(28S、5.5S 和 18S rRNA)的 DNA(rDNA)在双线期不仅在二价体染色体上不形成环的结构，二价体 rDNA 也不表达。然而，在双线期在核质的许多核仁中形成

rRNA 分子。两栖动物卵母细胞(甚至人类卵母细胞)的核仁是细胞核中暗染的小体;它是在粗线期二价体 rDNA 被扩增并以环状双链 DNA 释放到核质中的时候形成的(图 3-3a)。已观察到环状的编码 rRNA 的 dsDNA 核苷酸序列是通过**滚环机制**(rolling circle mechanism)自我复制的(图 3-3b)。细胞核中扩增的 rDNA 的转录是在双线期起始的,并且,在电子显微镜下可以见到大量的活性基因(图 3-3c)。

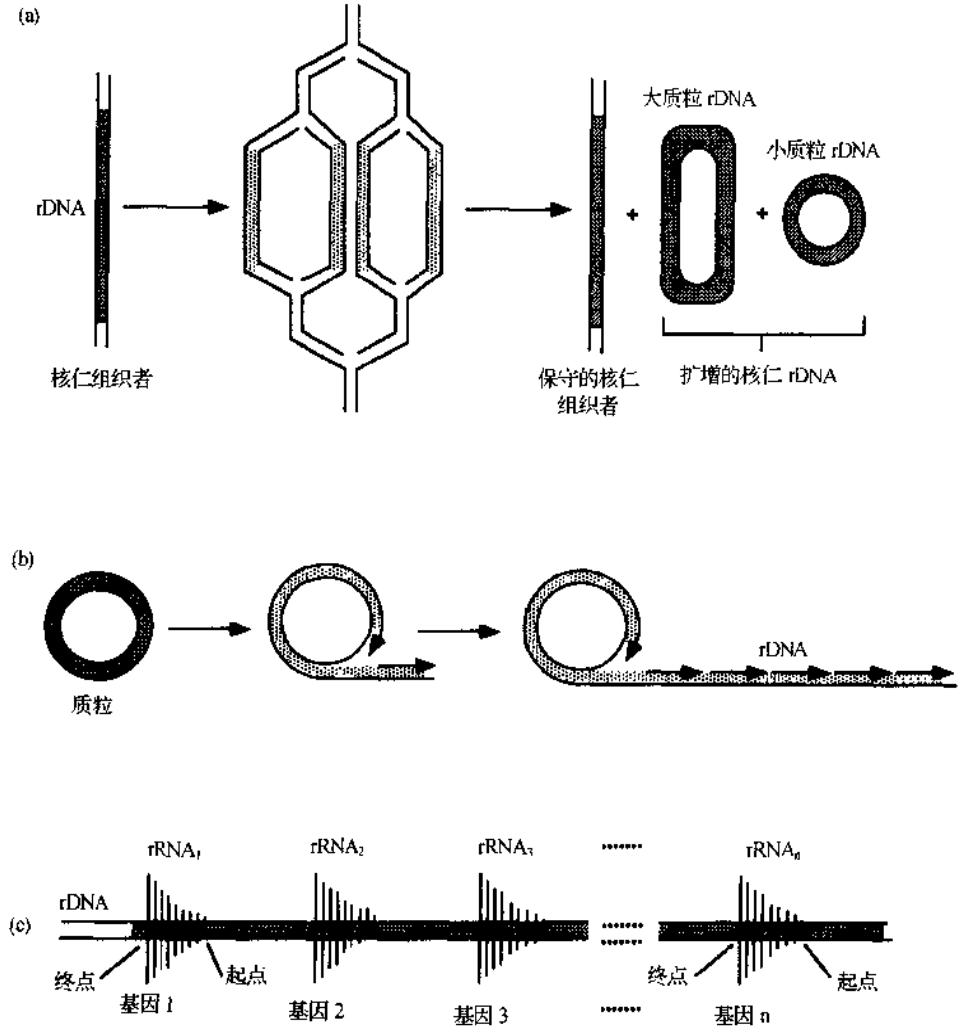


图 3-3 核仁组织者和核糖体 DNA。(a)核仁组织者。编码 rRNA 的一段长 DNA 序列称为核仁组织者,它是通过局部化的 DNA 复制进行扩增的。某些新复制的 DNA 形成编码 rRNA 的不同大小的质粒。质粒成为核仁的一部分;该核仁是在染色体上保守的核仁组织者附近形成的。(b)质粒。编码 rRNA 的质粒是通过滚环机制进行复制的。它形成了含有许多 rRNA 基因的线性分子。带有线性"尾巴"的环状分子是核仁的一部分。(c)rDNA 的表达:编码 rRNA 的线性 rDNA分子正在表达。垂直的线表示被许多基因(1,2,3,…,n)编码的 rRNA 分子。短线表示 rRNA 刚刚开始被合成,而长线表示 rRNA 的合成已接近完成。

3.11 什么是多线染色体?它们的功能是什么?

多线染色体(polytene chromsome)是非常粗大的,非常长的,并且是高度联合的染色体,在细胞周期的任何阶段均可在光学显微镜下看见多线染色体(图 3-4)。通常它们可在某些昆虫(如果蝇)幼虫的唾液腺细胞中被观察到。然而,除了在它们足垫的少数细胞以外,成熟果蝇没有多线染色体。虽然在有纤毛的原生动物的巨核中和某些植物的胚胎组织中可以观察到多线染色体,但是在大多数动物和植物物种中很难见到多线染色体。

在果蝇幼虫发育的过程中,唾液腺细胞中的染色体被刺激而进行复制。DNA 的复制大多

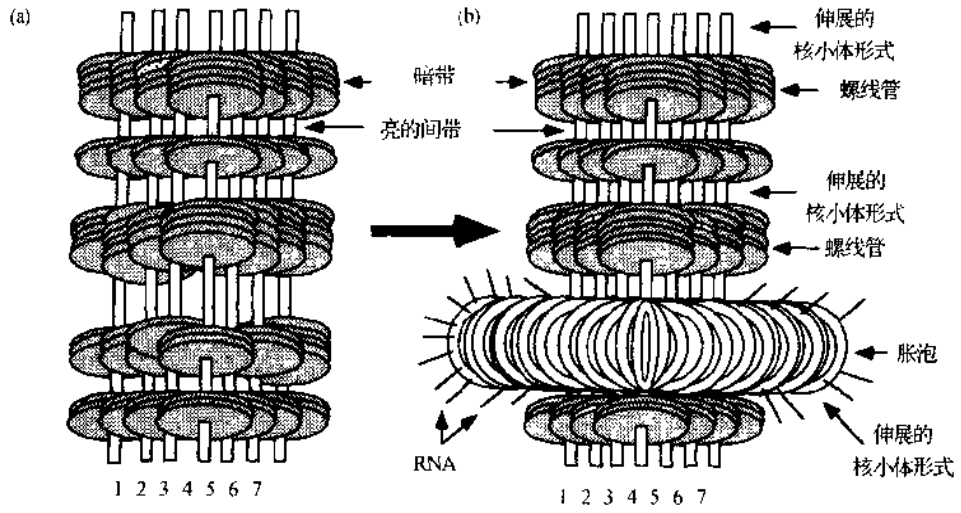


图 3-4　多线染色体。(a)一个多线染色体，只显示了可能存在的 1000 个染色单体当中的 7 个。暗带表示螺线管中的染色质，而亮的间带表示伸展的核小体中的染色质。间带物质可能是不编码 RNA 和蛋白质的间隔 DNA。(b)一个多线染色体，其中的一个暗带已从螺线管去凝聚转变为伸展的核小体形式。这个去凝聚的暗带称为胀泡，它是广泛合成 RNA 的位置。

数(但不是全部)是从 *oriR* 位点起始的。在还没分离的染色单体中 10 个同步进行的复制形成了由超过 1000 个染色单体($2^{10}=1024$)构成的一个多线染色体。暗带中的染色质处于螺线管形式，而暗带之间的是伸展的核小体形式(图 3-4a)。在黑腹果蝇 4 对染色体上有 5000 个以上的暗带，每个暗带含有 4～6 个基因，因此估计果蝇共含有 20 000～60 000 个基因。在暗带之间的区域可能也含有基因，但更可能是非编码的间隔 DNA。某些多线染色体的直径为 20μm 以上，而长度为 200μm。

在果蝇幼虫发育的不同时期，一个以上的暗带消失，在那些区域 DNA 形成胀泡(图 3-4b)。这些 DNA 胀泡(puff)含有处于转录过程中的基因。通过具有放射活性尿苷的快速掺入分析显示：胀泡由 DNA 和新合成的 RNA 构成。RAN 聚合酶 II 和许多与新 RNA 转录物加工有关的酶类也与胀泡结合。在幼虫发育过程中胀泡的模式发生变化。胀泡出现然后消失，被其他的胀泡取代。通过激素某些胀泡可人工诱导。通过注射蜕皮激素(可引起蜕皮)可诱导胀泡形成。那些在蜕皮过程中形成胀泡的基因可通过注射蜕皮激素使其较早地形成胀泡。

在幼虫发育过程中，某些需要量很大的基因产物，只由单个基因是不能生成足够的量。**基因放大**(gene amplification)和 **DNA 放大**(DNA amplification)是以多线染色体的形式进行的。在从正常染色体得到一个 RNA(即一个基因产物)的时间内，基因放大允许一个细胞产生超过 1000 个 RNA 转录物和超过 1000 倍的基因产物。多线染色体的合成是解决快速生产大量的 RNA 和蛋白质这个难题的一个途径。

DNA 复制

3.12　在原核生物中 DNA 复制的起始需要什么条件?

大肠杆菌染色体 DNA 复制是在一个单独的**复制起点**(origin of replication，*oriC*)上开始的，并从两个方向上进行到位于环形染色体约一半位置上的终止位点。*OriC* 位点的长度约为 245 碱基对(图 3-5a)。在 *oriC* 位点的一部分含有 13 个碱基对的片段，被称为 **13 聚体**(13-mer)，它重复出现三次；而第二个区域含有 9 个碱基对的片段，被称为九聚体，它重复出现四次。

当一个由 dnaA 基因编码的蛋白质与九聚体结合时，DNA 复制起始，并且形成一个蛋白质核，DNA 围绕着这个核盘绕(图 3-5b)。DNA 的盘绕明显地刺激含有一个 13 聚体的区域

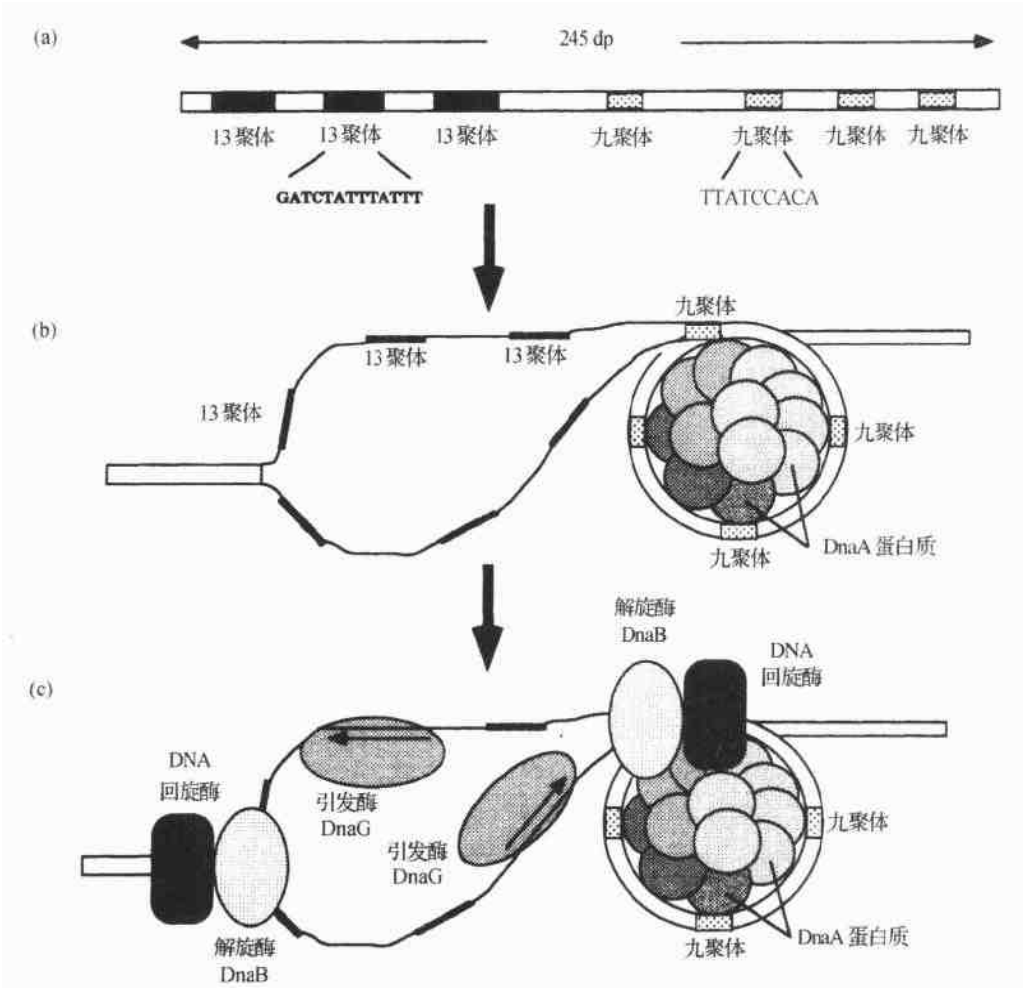


图 3-5　细菌中的复制起点。(a)大肠杆菌中的复制起点(*oriC*)约为 245 个碱基对长。*OriC* 位点的一部分含有 13 个碱基对的被称为 13 聚体的重复序列,而另外区域含有 9 个碱基对的被称为九聚体的重复序列。(b)DNA 的复制起始需要 DnaA 蛋白质(由 *dnaA* 基因编码)与 9 聚体结合。DnaA 复合物的形成促使 DNA 成环状围绕着复合物。DNA 的这个环刺激含有 13 聚体的 *oriC* 位点的部分中的双链解旋。(c)DNA 复制的起始伴随着 DNA 回旋酶、解旋酶和引发酶与 DNA 结合而继续进行。DNA 回旋酶除去正的超螺旋而解旋酶则使双链 DNA 解旋。引发酶合成 RNA 引物。RNA 引物是脱氧核糖核苷酸聚合(DNA 合成)所必需的。

解旋。在 DNA 复制能开始之前,大量的酶类与已解旋的 DNA 结合。

DNA 的解旋在环状 DNA 的其余部分导致正的超螺旋扭转,这使得继续解除双链螺旋在能量上是不利的。为了使 DNA 解旋,正超螺旋扭转必须通过切断 DNA 加以去除并使它释放,或通过引入负超螺旋扭转来抵消正超螺旋扭转。负超螺旋扭转的导入需要能量和**拓扑异构酶**(topoisomerase)(DNA 回旋酶)。**DNA 回旋酶**(DNA gyrase)可除去正超螺旋扭转或向 DNA 中导入负超螺旋,由此致使解旋在能量上是有利的。DNA 回旋酶对 DNA 复制的所有阶段都是绝对需要的。大概,DNA 回旋酶结合在未解旋的 DNA 前面。*dnaB* 编码的**解旋酶**(helicase)和 *dnaC* 编码的抑制蛋白质结合在含有 13 聚体的区域。蛋白质 DnaC 从解旋酶上解离允许解旋酶对 DNA 进行解旋。

DNA 复制的起始并不伴随新 DNA 的合成,因为 DNA 聚合酶不能启动 DNA 复制。它们只能从一个 3′末端具有可利用 OH 基的核酸来使 DNA 延伸。DNA 复制起始所需的核酸是一个作为**引物**(primer)的 RNA 分子。在大肠杆菌中,引物是由 RNA 聚合酶合成的;该聚合酶被称为**引发酶**(primase),并且它是由 *dnaG* 编码的(表 3.1)。结合在 *oriC* 上的引发酶使用 DNA 双链作为模板合成约 30 个核苷酸的 RNA 引物(图 3-5c)。解旋酶和引发酶最后形成一个复合酶系统;该系统被称为**引发体**(primosome),它在 DNA 合成开始后,在前导链上合

成引物。

表 3.1 与细菌染色体复制有关的酶类

酶	基因	活性
DNA 回旋酶(拓扑异构酶)	*nalA*,*novR**	除去正超螺旋扭转或导入负超螺旋扭转,在细菌中 DNA 复制结束时切断相互缠绕的子代染色体
解旋酶**	*dnaB*	使 DNA 的两条链解旋
引发酶**	*dnaG*	合成 RNA 引物(RNA 合成酶Ⅲ)
DNA 合成酶Ⅲ	*polC*	合成 DNA
DNA 修复酶	*polA*	用 DNA 置换 RNA 引物
DNA 连接酶	*dnaL*	连接 DNA,除去修复酶遗留下的切口

* 抵抗萘啶酮酸(nalA)和新生霉素(novR)。

** 由解旋酶和引发酶亚单位构成的一个引发体。

3.13 在原核生物 DNA 复制过程中发生了什么?

为了简化,只考虑两个复制叉中的一个(图 3-6)。复制叉是双链 DNA 两条链被解旋的位置,并作为合成新互补 DNA 的模板。拓扑异构酶Ⅱ(在细菌中为 DNA 回旋酶)对于 DNA 复制的起始是必需的。它在复制位置的起点附近导入负超螺旋。此外,拓扑异构酶Ⅱ对于 RNA 引物的合成和从引物开始的 DNA 的合成也是必需的。它在复制叉的前面除去正超螺旋。在 RNA 引物合成以后,"空闲"的引发酶与 DNA 模板和 RNA 引物分离,而与解旋酶结合的引发酶只与模板分离。DNA 聚合酶Ⅲ(PolC)的两个催化亚单位与模板和引物的 3′末端结合,并开始把脱氧核糖核苷酸聚合为 DNA。在对 DNA 双链正在进行解旋的引发体前面,DNA 回旋酶(拓扑异构酶)继续除去正超螺旋扭转或(和)导入负超螺旋扭转。在不同的间隔,模板指导引发体的引发酶(RNA 聚合酶Ⅲ)部分只在复制叉的一个模板上聚合成约 30 个核苷酸长的引物 RNA(图 3-6a)。*polC* 编码的 DNA 聚合酶Ⅲ在复制叉上从每个引物开始由 5′到 3′合成 DNA。DNA 的一条链的合成方向是朝向复制叉,并随着 DNA 进一步解旋继续延伸。DNA 的第二条链的合成方向是远离复制叉。随着 DNA 的进一步解旋,一个新的引物在复制叉不远处被合成,并且,DNA 聚合酶从这个新引物向着前一个引物的方向合成 DNA。

朝向复制叉合成的 DNA 链是以连续的方式合成的,该 DNA 链称为**前导链**(leading strand)。另一条 DNA 链是以不连续的方式向远离复制叉的方向合成的,该 DNA 链称为**后随链**(lagging strand)。前导链和后随链沿着细菌染色体合成,直到它们遇到在另一个复制叉合成的前导链和后随链。最初构成后随链的 RNA-DNA 片段被称为**冈崎片段**(Okazaki fragment),这是以发现它并证明后随链和前导链是以不同方式进行合成的科学家的名字来命名的。

RNA 引物是通过 DNA 修复酶除去的;该修复酶称为 DNA 聚合酶Ⅰ,它由 *polA* 编码(表 3.1)。它以相邻的 DNA 为引物,并从此合成 DNA,置换 RNA 引物。一个 **DNA 连接酶**(DNA ligase)除去 DNA 上的缺口,把 DNA 片段连在一起。拓扑异构酶Ⅳ对于子代染色体的分离是必需的。拓扑异构酶Ⅳ切断一个子代染色体的两条链并使另外一个子代染色体由此裂隙通过。最后,这个切口被酶修复。

3.14 在真核生物中 DNA 复制的起始需要什么条件?

真核染色体 DNA 的复制一般是从许多复制起始(*oriR*)位点起始的。在真核生物中被研究的这个 *oriR* 位点目前称为**自主复制序列**(autonomously replicating sequence,ARS)。它们在某些方面与细菌的 *oriC* 位点相似,如它们由两个区域构成,在这两个区域结合一些不同的蛋白质,这些蛋白质可使双螺旋不稳定(图 3-7)。真核生物的 A 区域有重复出现的 11 聚体,

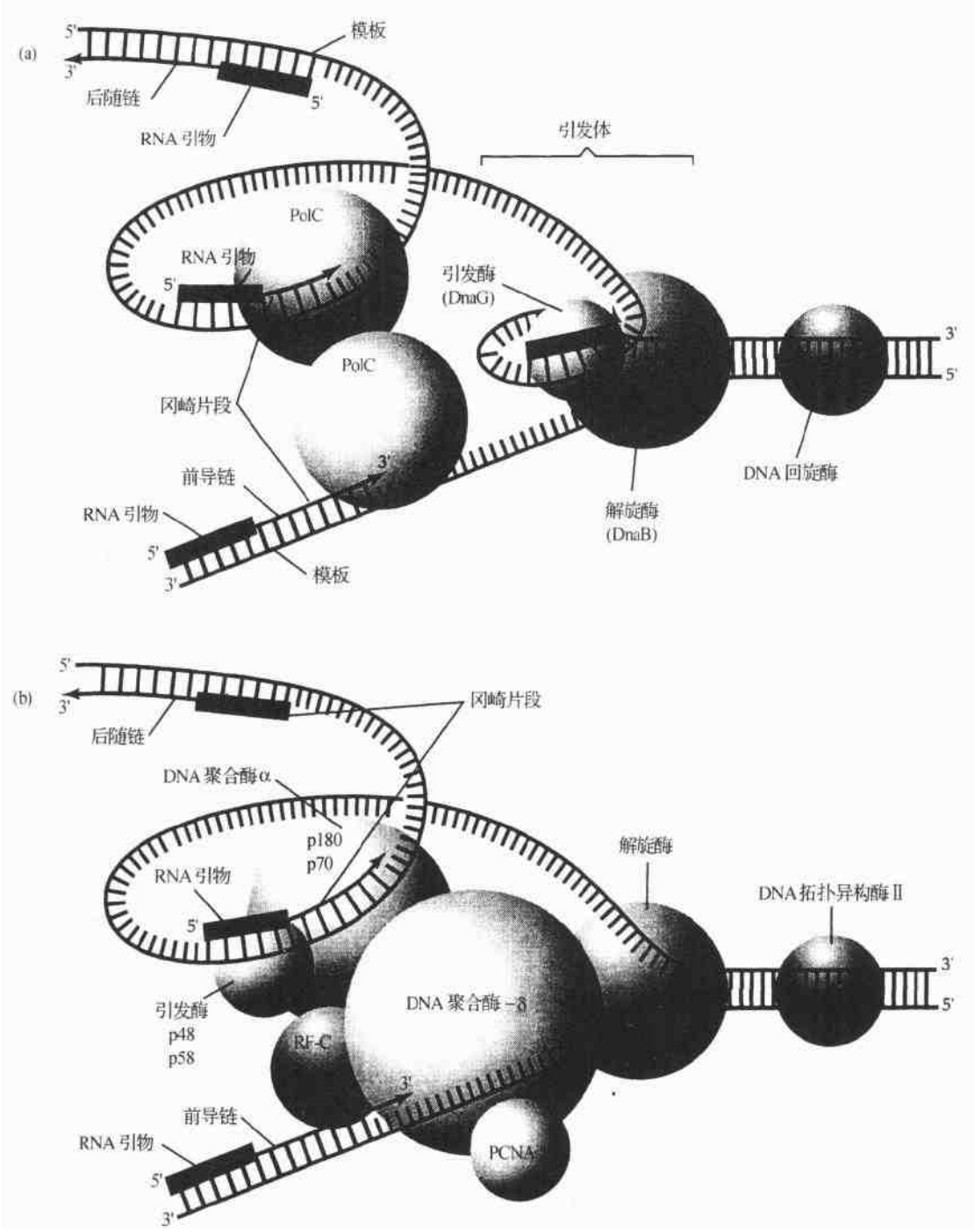


图 3-6　在复制叉上 DNA 的复制。(a)原核生物 DNA 复制。DNA 回旋酶(最右端)正插入负超螺旋盘绕(或除去正超螺旋盘绕)。一个引发体由一个解旋酶(它正对 DNA 链进行解旋)和一个引发酶(它正在一个不连续合成 DNA 的模板上合成 RNA 引物)。不同的 DNA 聚合酶(PolC)从 RNA 引物合成连续的链和不连续的链。(b)真核生物 DNA 复制。一个 DNA 拓扑异构酶 II(最右端)正在除去正超螺旋盘绕。一个解旋酶紧随其后，对 DNA 双链进行解旋。一个 DNA 引发酶复合物和 DNA 聚合酶 α 分别合成 RNA 引物和 DNA，即不连续 DNA 的合成。引发酶由两个蛋白质(p48 和 p58)构成。DNA 连续链在其他肽类(如 PCNA 和 RF-C)的帮助下通过 DNA 聚合酶 δ 合成的。PCNA：增殖细胞核抗原，RF-C：复制因子 C。RF-C 可连接 DNA 聚合酶 α 和 DNA 聚合酶 δ。

该区域与转录因子(如 E2F)、拓扑异构酶、解旋酶和 RNA 聚合酶结合。在细胞中，转录因子是连续生成的，但是，它们通过与肿瘤抑制因子蛋白质，如成视网膜细胞瘤蛋白(Rb)，形成复合物而处于抑制状态。E2F 是通过信号传导途径(可导致 Rb 的磷酸化和抑制)的刺激从

E2F-Rb 复合物上被释放。

依其 ARS,B 区域可结合**转录激活物**(transcriptional activator),如 **Oct－1** 和 **AP－1**,**Fos** 和 **Jun**,或 **CTF** 和 **NF-Ⅰ**。然而,大多数转录激活物没有足够的量来启动 DNA 的复制或 RNA 的合成。DNA 的复制只发生在转录激活物基因表达之后。一般来讲,转录激活物的表达被称为生长因子的肽类或类固醇类激素诱导(在第 11 章讨论)。生长因子刺激信号传导途径,诱导编码转录激活物的基因表达。

结合在 B 区域的转录激活物与在 A 区域中的转录因子相互作用,导致 DNA 扭曲。DNA 的这种扭曲和/或转录激活物和转录因子之间的相互作用可促进在 *oriR* 区域中配对的 DNA 链分离和促进 RNA 合成的起始。最初合成的 RNA 可作为前导链合成的引物。

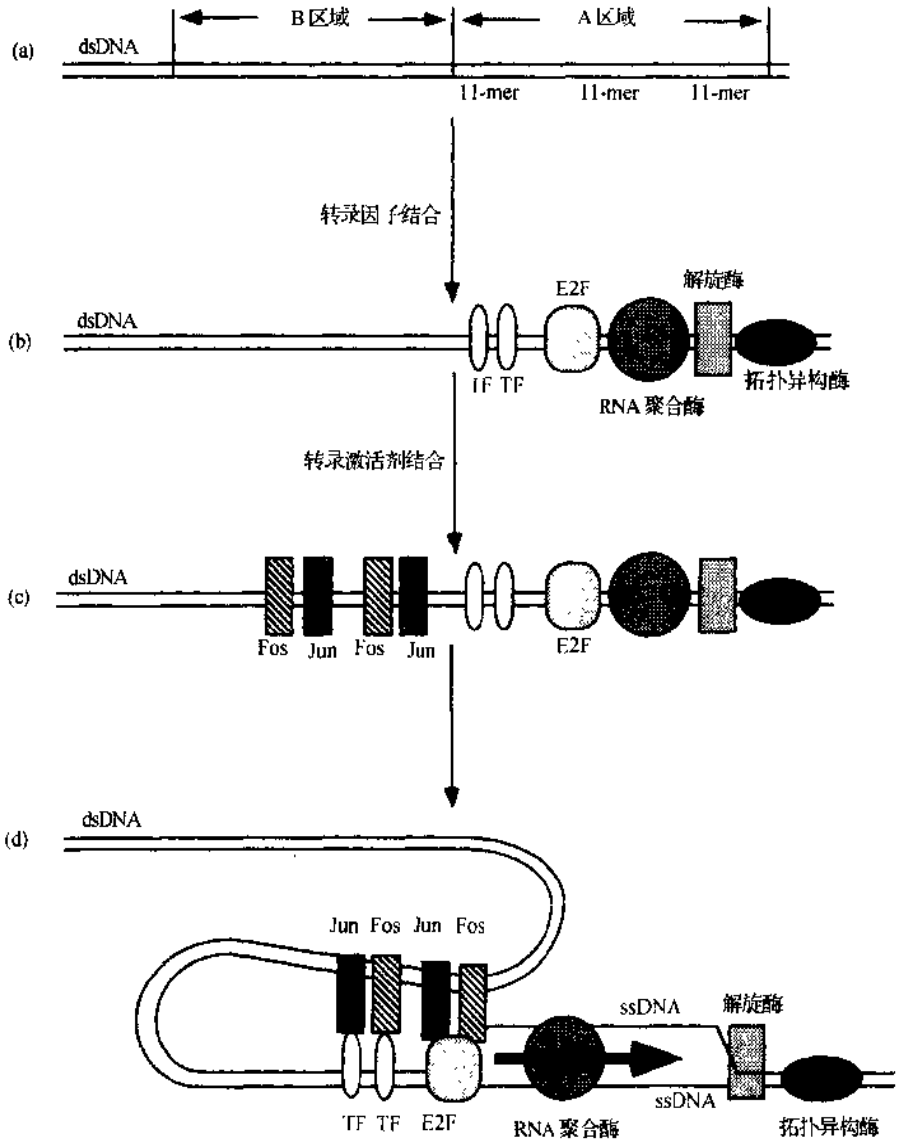


图 3－7　真核生物中复制(自主复制序列)的起始。(a)复制起始位点由两个区域构成,A 和 B。A 区域含有 11 个碱基对的 DNA 重复片段,称为 11 聚体。B 区域还没有被描述。(b)A 区域与转录因子(如 E2F)、RNA 聚合酶(引发酶)、解旋酶和拓扑异构酶结合。TF 表示另外的转录因子(除了 E2F 以外),它是 DNA 复制起始所必需的。(c)引物合成只发生在转录激活物蛋白质(如 Fos 和 Jun)与 B 区域结合之后。(d)转录激活物(Fos 和 Jun)和转录因子(TF 和 E2F)之间的相互作用导致 DNA 成为环状。DNA 的这种成环状态是 DNA 双链解旋和引物合成所必需的。

3.15　在真核生物中 DNA 的复制是如何发生的？与原核生物中的比较如何？

真核生物有大量线性的双链 DNA 染色体，每个染色体中有许多供 DNA 复制起始的位点。以符号 *oriR* 表示的这些复制起始位点相互之间可有 10 000 千碱基对。因此，100 000 千碱基对长的染色体(编码 10 000 个基因)可有 10 个 *oriR* 位点，并且其复制的速度可像较短的细菌染色体一样的快。事实上，真核染色体具有比从细菌每个基因组数量预测的更多 *oriR* 位点。

例 3.7

酵母染色体有 400 个 *oriR* 位点。然而，在同一时间内，并不是所有的 *oriR* 位点都具有活性。在细胞周期的 S 期中，有些起作用早一些，有些起作用晚一些。用放射标记方法对刺激染色体复制的中华仓鼠进行实验，提示：较长的可有超过 1000 个 *oriR* 位点。

例 3.8

真核染色体中大量的 *oriR* 位点与真核染色体的数量相关，意味着通常它们复制染色体的速度较快于细菌。在果蝇中，在早期的胚胎发育过程中每 10 分钟核被倍增一次，而在大肠杆菌中，每 20 分钟复制发生一次。然而，在发育的晚期，果蝇细胞核的倍增需花费 10 个小时。在此期间处于活性状态的 *oriR* 位点较少。

与细菌 DNA 复制相关酶类相似的酶类也存在于真核生物中。大量的拓扑异构酶、解旋酶和 RNA 聚合酶已在真核生物中发现。**DNA 拓扑异构酶Ⅱ**与 DNA 中正超螺旋的解除有关，而解旋酶可使双链解旋(图 3－6b)。

在真核细胞中至少有五种不同的 DNA 聚合酶(α、β、γ、δ 和 ε)被鉴别(表 3.2)。引发酶与**DNA 聚合酶 α** 结合，它合成后随链 DNA。而 **DNA 聚合酶 δ** 催化前导链的合成。与 DNA 聚合酶 α 结合的两个最小的亚单位(p48、p58；分子质量分别为 48 000Da 和 58 000 Da 的蛋白质)具有引发酶(RNA 聚合酶)的活性。聚合酶的 p180 亚单位催化核苷酸的聚合，而 p70 是辅助因子。**DNA 聚合酶 ε** 和 **DNA 聚合酶 β** 弥补由限制性内切核酸酶除去 RNA 引物留下的核苷酸缺口。DNA 修复后，**DNA 连接酶**修复 DNA 上留下的单链缺口(没有连接的相邻核苷酸)。

表 3.2　真核生物和原核生物中的 DNA 聚合酶

酶	合成	外切核酸酶	功能
原核生物			
Pol Ⅰ	5′→3′	5′→3′，3′→5′	缺口填充，DNA 修复
Pol Ⅱ	5′→3′	—— 3′→5′	缺口填充，DNA 修复
Pol Ⅲ	5′→3′	5′→3′，3′→5′	复制
真核生物			
Pol-α	5′→3′	—— ——	细胞核中后随链的复制；与 Polδ 协同作用
Pol-β	5′→3′	—— ——	细胞核中缺口填充和 DNA 修复
Pol-δ	5′→3′	—— 3′→5′	细胞核中前导链的复制；与 Polα 协同作用
Pol-γ	5′→3′	· 3′→5′	线粒体中复制
Pol-ε	5′→3′	—— 3′→5′	细胞核中缺口填充和 DNA 修复

3.16　什么是端粒？在线性真核染色体末端的 RNA 引物如何被 DNA 置换的？

真核染色体的末端称为**端粒**(telomere)。它们不是正常的，它们是由短的反反复复重复的核苷酸序列构成。在某些情况下，每个链的末端被共价连接，进而保护该末端免受外切核酸酶的降解。

☞ **例 3.9**

原生动物四膜虫染色体末端的重复序列是 5′TTGGGG3′。在其端粒有数百个这样的重复序列。一条链的 3′末端被一个特殊的酶所延伸。这个延伸了的末端能自身形成氢键，因此，该末端具有发卡结构(图 3-8)。

为了完成染色体的复制，在染色体每个末端的 RNA 引物被除去并以 DNA 置换。虽然，RNA 引物可被外切核酸酶除去，但是，没有任何一个正常的 DNA 聚合酶(表 3.2)在没有引物存在的情况下用 DNA 来置换 RNA。DNA 聚合酶的一个非常类型称为**端粒酶**(telomerase)，它由蛋白质和一个 RNA 模板(由此蛋白质部分可将其拷贝为 DNA)构成。这延伸出端粒的一条链(图 3-8)。

一个模型提出：一条链的 5′末端的 RNA 引物被外切核酸酶消化(图 3-8a)。端粒酶通过其互补的 RNA 亚单位模板(3′AAAACCCCAACUUA5′)与 DNA 的 5′TTGGGG3′相结合。端粒酶的蛋白质部分读其亚单位的模板，催化加上另外的重复的 5′TTGGGG3′。在某些情况下，这新合成的 DNA 可形成**发卡结构**(hairpin structure)，它可作为新的引物起作用。这个 G 片段能形成**非 Watson-Crick 碱基配对**(non-Watson-Crick base pairing)(图 3-9)。Watson-Crick 碱基配对一般是存在于 dsDNA 中的碱基配对：腺嘌呤与胸腺嘧啶形成氢键；鸟嘌呤与胞嘧啶形成氢键。非 Watson-Crick 碱基配对将包括除了 A＝T 和 G≡C 以外的任何配对。填充缺口的 DNA 聚合酶 β 或 DNA 聚合酶 ε 利用环状发卡结构末端的 3′-OH 作为一个引物。

3.17 线粒体和叶绿体中 DNA 的特征。

实际上，所有线粒体和叶绿体都具有环状双链 DNA 染色体，它编码该细胞器中所有的 tRNA 和 rRNA，以及少数该细胞器所需的蛋白质。每个这样的细胞器具有 50～100 个染色体。在植物线粒体中，染色体常相互再结合，形成大小不同的分子。原生动物四膜虫和草履虫是线粒体染色体为环状的这个“规律”的例外；它们的线粒体具有线性的染色体。绿藻(伞藻)在其叶绿体中具有线性的染色体。动物细胞中的线粒体 DNA 编码线粒体核糖体的三个 rRNA(5S、16S 和 23S rRNA)，22～30 个蛋白质合成所需的 tRNA，以及 13～15 个作为结构成分和酶类在起作用的蛋白质。据有机体的不同，一个多肽是**细胞色素 b**(cytochrome b)，四个蛋白质构成**细胞色素 c 氧化酶**(cytochrome c oxidase)，三个到四个是 **ATP 酶**(ATPase)复合物的亚单位，六个到七个构成 **NADH 还原酶**(NADH reductase)。据报道，某些线粒体可编码一个核糖体蛋白质。所有其他的蛋白质都是由核基因组所编码，在细胞质核糖体上合成，并被运输到线粒体中。

动物的线粒体染色体是最小的染色体之一，其大小范围是 16～20 千碱基对。请把它与约含有 5000 千碱基对的大肠杆菌进行比较。植物线粒体中的染色体大小范围是 75～2500 千碱基对，较大者含有大量的不编码任何物质的“填充”DNA(有时称为“垃圾”或“自私”DNA)。

叶绿体染色体的大小范围是 80～600 千碱基对。大小的差别主要源于重复的没有功能的序列。叶绿体 DNA 可编码 75～120 个蛋白质，远多于线粒体染色体。许多基因编码核糖体蛋白质，而许多已成为**假基因**(pseudogene)。假基因是带有一段与其他部位的已知基因非常相似序列的 DNA，其结构中的缺失和添加使其不具功能，或由于缺少启动子区域不能转录。叶绿体染色体也编码其核糖体的 rRNA 和阅读遗传密码所需的 tRNA。

3.18 线粒体中 DNA 如何复制？该复制如何与真核和原核细胞核中的 DNA 复制比较？

线粒体染色体的两条链可基于其密度来区别。轻(L)链的功能是作为模板：在复制起始

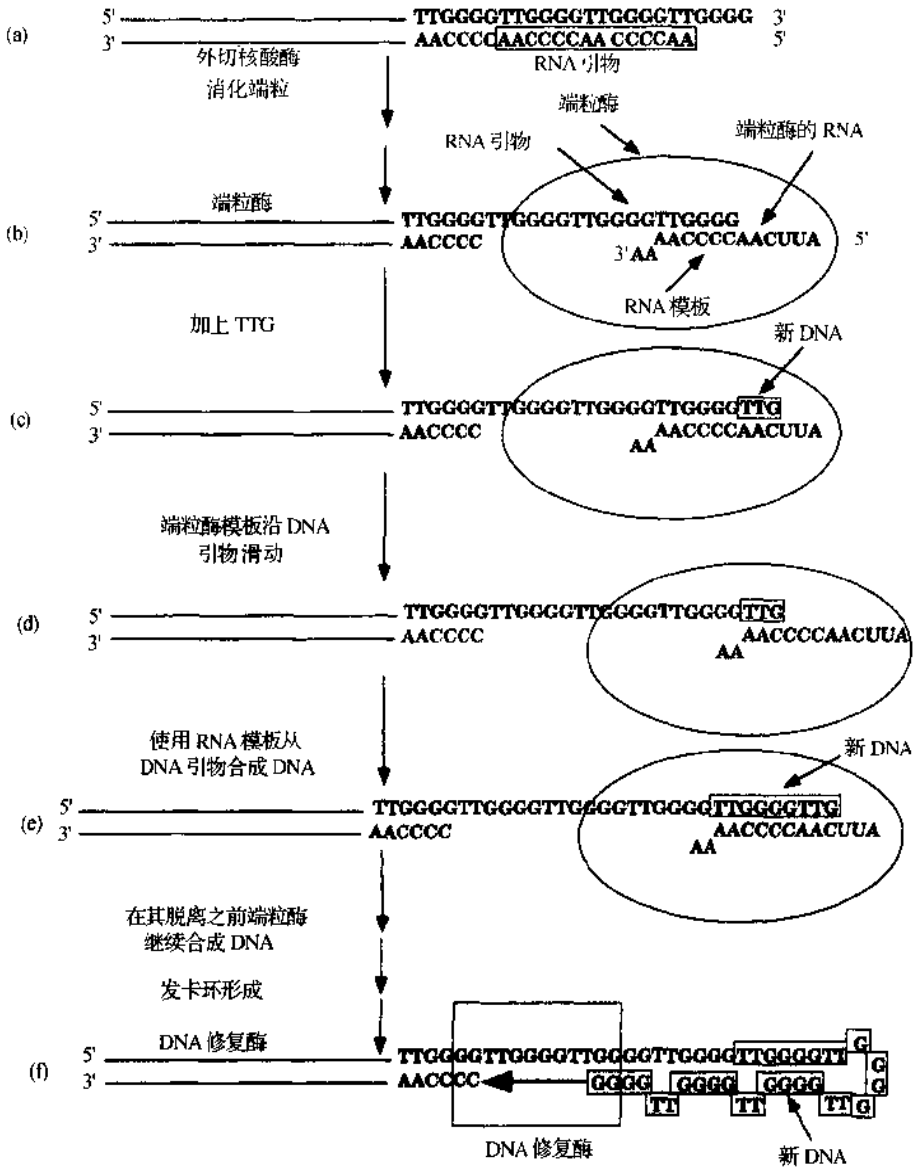


图 3-8 端粒和端粒酶。(a)外切核酸酶消化端粒 5′末端的 RNA 引物,留下单链 DNA 作为引物。(b)端粒酶通过作为模板的 RNA 成分与端粒单链的其余部分结合。(c)端粒酶的蛋白质部分使用 RNA 作为模板从 DNA 引物的 3′末端聚合脱氧核糖核苷酸。在端粒酶模板滑动之前,只有两个胸腺嘧啶被加上。(d)端粒酶沿 DNA 滑动,再一次把 RNA 模板暴露给其聚合酶活性部分。(e)端粒酶的蛋白质成分再一次从 DNA 引物的 3′末端聚合脱氧核糖核苷酸。再一次,端粒酶以其 RNA 作为模板。(f)端粒酶从延伸的单链 DNA 上解脱。延伸的 ssDNA 通过在鸟嘌呤之间形成非 Watson-Crick 碱基配对构成发卡样结构。DNA 修复酶弥补缺口,连接酶封闭余下的切口。

位点,在轻链上的转录启动子的辅助下连续合成一个新的重(H)链。通过 RNA 聚合酶进行引物合成的启动需要转录因子、拓扑异构酶和解旋酶。然而,这些酶没有一个被鉴别。从 RNA 引物开始通过 **DNA 聚合酶 γ**(DNA polymerase-γ)实施 DNA 复制。最初,DNA 复制是单向的,因为直到通过单向 DNA 合成从 *ori-1* 起始而 DNA 被解链,在重链上的启动子一起始位点(*ori-2*)才能作为模板来使用。在染色体约 2/3 的位置,解旋作用为使用重链作为模板进行 DNA 复制打开了第 2 个复制起始位点(*ori-2*)。在重链上的 DNA 合成是连续的,并且合成方向与轻链上的合成方向相反。当使用轻链模板 DNA 复制完成,新合成的染色体从未完成的染色体上分离。这个分离过程需要拓扑异构酶。此外,由于 DNA 聚合酶 γ 没有 5′→3′核酸外切酶活性(表 3.2),所以,需要核酸酶和修复酶在每条新链的起始部位除去 RNA 引物。然而,这些酶还没有被鉴别。连接酶修复 DNA 上任何单链切口。两条新合成的链都是

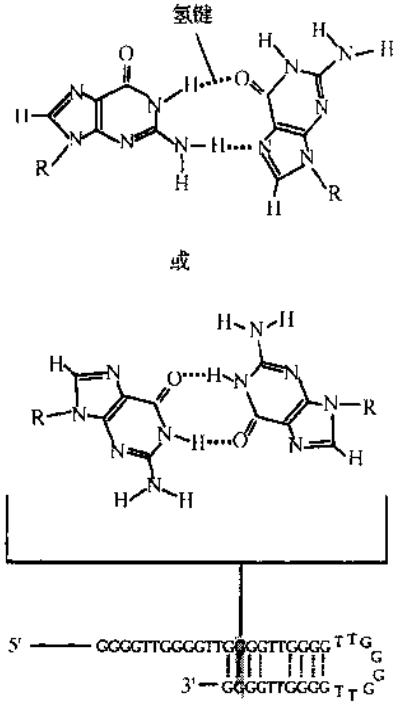


图 3-9　非 Watson-Crick 碱基配对。图示在端粒合成过程中，在鸟嘌呤间可能的非 Watson-Crick 碱基配对，它与发卡样结构的形成有关。

连续的(像前导链)，而且，不产生冈崎片段。不像核 DNA 复制只发生在 S 期，线粒体 DNA 的复制不局限于细胞周期的 S 期，可在间期的所有阶段($G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2$)发生。

3.19　叶绿体中 DNA 的复制与线粒体中的 DNA 复制如何比较?

除了它们的复制从两个复制起始位点(*ori-1* 和 *ori-2*)同时启动。叶绿体染色体的复制非常像线粒体染色体的复制。每条链从 RNA 引物起始，每条链是沿着环状模板连续合成的。没有 DNA 不连续合成。当新合成的链相互通过时，该合成表面上很像双向复制。

3.20　基于与 DNA 结合的蛋白质域，DNA 结合蛋白质至少可分为四类。这些类型是什么?

到目前为止已鉴别的最大一类 DNA 结合蛋白质具有折叠成**螺旋-转角-螺旋域**(helix-turn-helix domain，HTH domain)的氨基酸序列(表 3.3)。HTH 域称为**同源域**(homeodomain)，而编码 HTH 域基因的部分称为**同源框**(homeobox)。带有同源框的基因称为**同源基因**(homeotic gene)，因为这些基因中发现的第一个是促进大多数动物中的同源体节(如昆虫的腹节)分化的。同源基因的产物被称为**同源蛋白**(homeotic protein)。

表 3.3　DNA 结合蛋白质家族

结构域	例子	功能
螺旋-转角-螺旋*	Bicoid(Bcd)	果蝇头部发育
	Bithorax(Bx)	果蝇节片分化
	触角足(Antp)	果蝇节片分化
	Trp 阻抑物(TrpR)	细菌色氨酸基因的阻抑物
	Lac 阻抑物(LacI)	细菌乳糖基因的阻抑物
	Lambda 阻抑物(CI)	病毒基因阻抑物
	cAMP 受体(Crp)	cAMP 受体
螺旋-锌指	Hunchback(Hb)	果蝇前节片的发育
	Kruppel(Kr)	果蝇中节片的发育
	激活物(Gal4)	Gal-1 和 Gal-10 的转录激活物
	蜕皮激素受体(Ecd)	变态和蛹化所需
	睾酮受体(Dev)	哺乳动物第一和第二雄性特征发育所需的类固醇激素
	转录因子(ATFIIIA)	真核转录因子
	转录激活物(Sp1)	真核转录激活物
扭曲螺旋加亮氨酸拉链	激活物(Myc)	哺乳动物转录激活物
	激活物(Fos)	哺乳动物转录激活物
	激活物(Jun)	哺乳动物转录激活物
	激活物(Gcn4)	哺乳动物转录激活物
β 带	Runt(Rnt)	果蝇节片和神经发育
	重组因子(Ihf)	λ 噬菌体整合宿主因子
	Met 阻抑物(MetJ)	蛋氨酸生物合成基因的阻抑物

* 与螺旋-环-螺旋同源域相同。

第二类DNA结合蛋白质具有一个或多个螺旋和与锌离子结合的氨基酸。这些氨基酸序列允许蛋白质去结合DNA,被称为**螺旋-锌指域**(helix-zinc-finger domain)。锌离子形成并维持与DNA结合所需的蛋白质构型。Hunchback(hb)和Kruppel(Kr)是果蝇节片发育中重要的蛋白质,已有报道称其具有锌指结构。大多数类固醇激素受体具有一个或多个螺旋和锌指结构。果蝇类固醇激素——蜕皮激素的受体是一个螺旋-锌指蛋白质。蜕皮激素刺激化蛹作用和变态。

另外一类DNA结合蛋白质具有单个**转折-螺旋域**(bent-helix domain),它与DNA的大沟结合。一般来讲,这些蛋白质是作为二聚体在起作用。二聚体是通过每个亚单位(含有多个亮氨酸)中次级域而聚在一起。使调节蛋白质亚单位聚在一起的次级域称为**亮氨酸拉链**(leucine zipper)。真核生物中启动DNA复制和激活mRNA合成的转录激活物(如Fos和Jun)属于这类DNA结合蛋白质。第四类DNA结合蛋白质具有**β带结构**(β-ribbon structure),该结构允许它与DNA结合。Runt(*rnt*)是果蝇的一个基因,它控制节片的形成和神经发育,它属于β带类型。噬菌体λ向细菌染色体插入其遗传信息所使用的细菌蛋白质也属于β带结构。

DNA重组

3.21 染色体能通过重组相互交换DNA或相互融合。什么是重组?它的价值是什么?

在细菌中,进入细胞(通过各种途径,该问题将在第7章中讨论)的DNA片段可成为主染色体的一部分或成为一个质粒。这个整合过程称为**基因重组**(genetic recombination);一般它发生在两个DNA完全相同或非常接近的位置上。对于一个物种,重组可为一个有益的过程,因为它可形成新的遗传信息。群体中形成的所有新基因和等位基因不仅源于突变,也源于某种类型的重组事件。新基因和新的等位基因可使得一个群体在不利的或变化的环境条件中继续生存。此外,DNA的吸收和基因重组可以给有机体提供一个机制,使其可替换被严重损伤的或被删除的基因。

在真核生物中,基因重组可在有性繁殖的后代中形成遗传的多样性。在减数分裂的过程中,交换过程可在配子中产生与亲代不同的连锁排列。有利的基因重组通过自然选择可成为永久性的。发生在减数分裂过程中的重组也意味着DNA的修复和丢失DNA的补充。修复是通过对与损伤或丢失DNA相似的外源DNA进行拷贝而实现的。由于有大量的催化重组的遗传系统,所以,重组过程也各不相同。

3.22 基因重组的两个主要类型:位点特异重组和非特异重组。区别它们的特征是什么?

位点特异重组(site-specific recombination)在重组的DNA分子之间只需短的同源性序列,通常它可改变染色体片段的相对位置。**非特异重组**(general recombination)只发生在同源DNA分子之间,通常它不改变各自染色体内的基因位置。

3.23 位点特异重组有些什么不同的类型?

如果它们带有相同的双链区域(称为重组位点),在不同染色体之间的重组就可发生。基于特异的重组位点至少有四种类型的重组(表3.4)。这些重组是基于下列方面:限制性内切核酸酶位点(RES)、插入序列(IS)、长末端重复序列(LTR)和信号序列(SS)。在细菌与病毒基因组之间的重组(基于限制性内切核酸酶位点)和在原核质粒与它们的细菌宿主之间的重组(基于IS)将在第7章讨论。

表 3.4 重组类型

位点特异重组
(a)依赖限制性内切核酸酶位点(RES)
例子:噬菌体 λ 和宿主 λ *attB* 位点
所需的酶类:整合酶、切除酶和整合宿主因子
RES 的大小:在 λ(*attP*)中和宿主(*attB*)中均为 15bp*;在 *attP* 周围的 240bp 也是需要的
(b)依赖插入序列(IS)
例子:插入序列、质粒和复合转座子
所需的酶类:转座酶,可能还有一个解离酶
IS 的大小:800～1500bp
(c)依赖长末端重复序列(LTR)和 Delta 重复序列(DR)
例子:反转座子和反转录病毒
所需的酶类:反转录酶和一个整合酶
LTR 的大小:276bp(果蝇中的 Copia)、340bp(酵母中的 Ty)和 479bp(果蝇中的 Gypsy)
(d)依赖信号序列(SS)
例子:抗体和 T 细胞受体基因
所需的酶类:?
SS 的大小:29 和 39bp
非特异重组
(e)依赖同源区域(HR)
例子:同源染色体
所需的酶类:RecBCD 和 RecA
同源性的大小:数百个 bp

* bp=碱基对

3.24 在原核生物中,非特异重组(非位点依赖性重组)是如何发生的?

在细菌和其他有机体中一种常见的重组类型是在两个同源染色体之间或同一染色体中 DNA 片段和同源区域之间的重组。因为这类重组不需要"特殊"位点,所以,它被称为**非特异重组**或**非位点依赖性重组**(general recombination or site-independent recombination)(表 3.4)。它需要 DNA 之间广泛的同源性,并且与 DNA 合成有关。许多细菌中的非位点依赖性重组依赖于 *rec* 基因(*recA*、*recB*、*recC*、*recD*)的产物(图 3-10)。

如果 DNA 片段是单链,**RecA 蛋白**(RecA protein)与它结合并引导它到细胞染色体上的同源区域(图 3-10a)。RecA 蛋白在细胞染色体与该片段同源区域进行解链,并促进在该片段与一条染色体 DNA 链之间形成氢键。成功进行非特异重组所需最少的同源核苷酸碱基数量约为 60 个碱基对,但通常有数百个碱基。最后,**UvrABC 限制性内切核酸酶**(UvrABC endonuclease)从该染色体上切除已解开的多余的链。连接酶修复切口。如果有错误,UvrABC 在错配链的两端做切口,修复酶(DNA 聚合酶 I)把错配的链移走并用与互补链相配的新 DNA 替代。连接酶修复 DNA 中的切口。由于链的交换,一个新的等位基因经常置换原有的基因。这可导致细胞特征的改变,这种现象称为转型(transformation)。

如果 DNA 片段是双链,在重组发生之前它必须被转换为单链 DNA。从片段的一个末端起始,RecBCD 蛋白行进到 chi(χ)位点,在此 RecBCD 的 RecD 亚单位切断 DNA 的一条链。然后,RecA 蛋白与该单链 DNA 结合,然后再结合到细胞染色体的一个同源区域。该单链 DNA 与同源染色体 DNA 形成氢键,并成为这个染色体的一部分,如先前段落所介绍的那样。

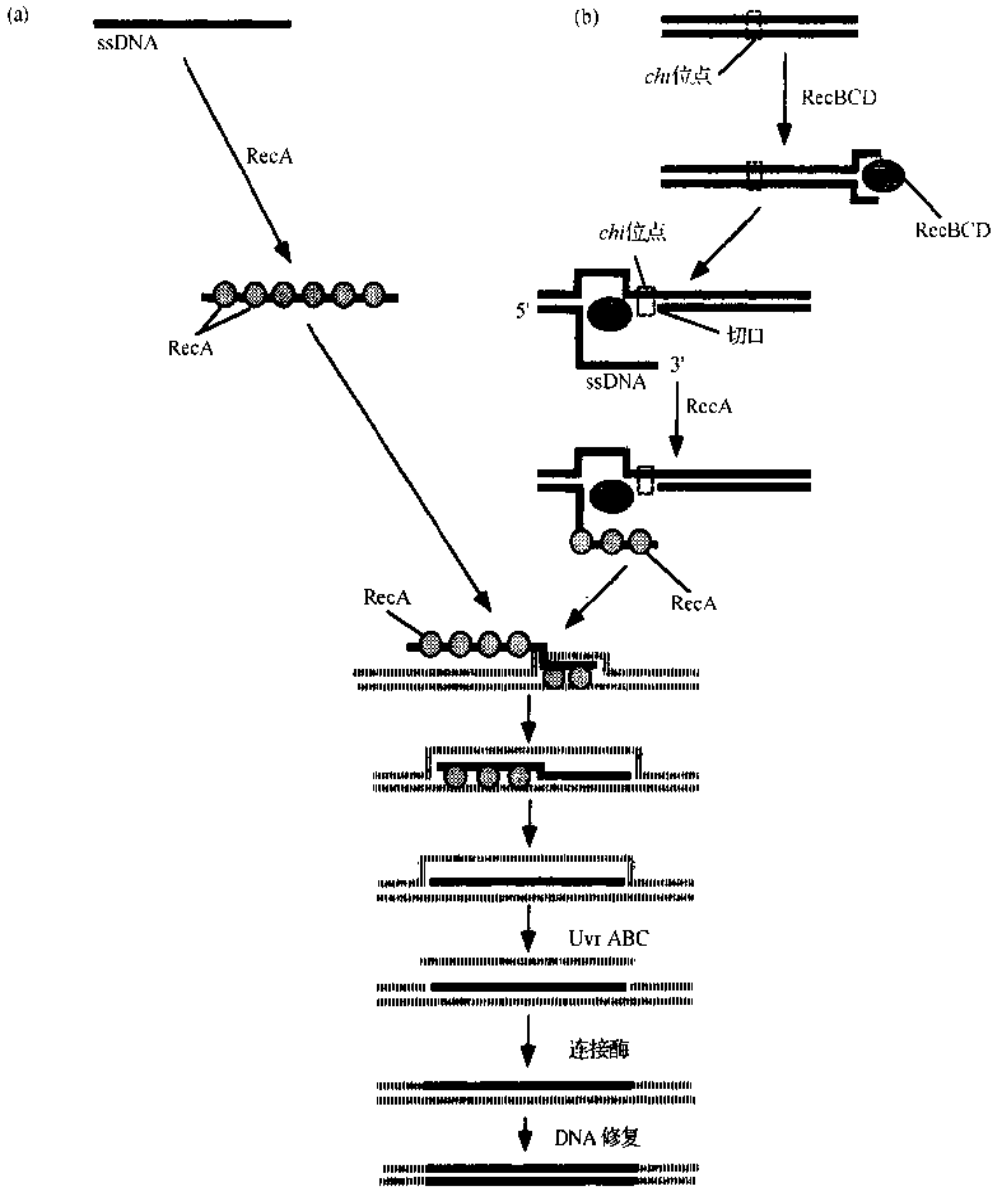


图 3-10　非特异重组(非位点依赖性重组)。(a)在细菌中,正在转化的 DNA 以单链分子的形式进入细胞。RecA 蛋白与单链 DNA 结合。后来,RecA 蛋白与细菌染色体结合并随着它寻找同源性区域,把双螺旋解链。在转化的 DNA 和细胞 DNA 互补区域之间形成氢键。一个酶(如 UvrABC)切除解链的 DNA 的非配对部分。连接酶修复切口。如果两条新链不完全同源,将会有小的扭曲变形,这些可被 DNA 修复系统所矫正。修复过程除去一条非同源链。在此例中,最初的 DNA 链丢失。(b)在细菌中,通常接合发生在受体细胞的双链分子中。RecBCD 蛋白寻找 DNA 上的一个 *chi*(χ)位点,在此它切断一条 DNA 链(形成一个"切口")。产生的单链 DNA 与 RecA 蛋白结合。RecA 蛋白与细菌染色体结合,随着它寻找同源性区域,使双链解链。导致与新 DNA 组合的步骤与(a)部分讨论的完全相同。

3.25　在真核生物中如何形成非特异重组?

非特异重组通常发生在减数分裂的前期Ⅰ。在前期Ⅰ中有五个阶段:它们是(顺序是从最早的阶段到最晚的阶段)细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期。在细线期阶段,染色体开始凝聚为成环的螺线管形式,但是,在光学显微镜下还见不到它。偶线期中在同源染色体对之

间的许多区域阶梯样蛋白质开始形成的时候，同源染色体形成配对。这个结构约为 100nm 宽，它被称为**联会复合体**(synaptonemal complex)。被称为**重组节**(recombination module)(直径约 90nm)的非常大的蛋白质存在于联会复合体的间隙中，它作为多酶的"重组机器"在起作用。在每个重组节，四个染色单体中的两个断裂并各自分别与另外一个再结合，这种现象称为**交换**(crossing over)。

在前期 I 的**粗线期**(pachytene stage)，染色体浓缩，联会复合体开始降解。**去联会**(desynapsis)标志着**双线期**(diplotene stage)的开始。在双线期交叉首次显现。**交叉**(chiasmata)是同源染色体以交叉形结构连在一起的区域。在每个交叉位点上的纠缠在一起的重组染色单体的功能是把父系和母系同源染色体共同结合在纺锤体上，一直持续到后期 I。关于联会复合体的蛋白质分子，重组节，以及导致同源染色体片段联会的机制等，知之甚少。一般认为，重组节中的限制性内切核酸酶切断每个能重组的染色单体的一条单链，解旋酶使 DNA 解旋，形成单链区域。(图3-11)。一个与 RecA 相似的蛋白质催化单链 DNA 与同源染色单体上的互补链配对。DNA 聚合酶可延伸已交换的链，DNA 连接酶除去链中的切口(图3-11c)。这个阶段的 DNA 已从大肠杆菌中分离出来，并称其为***chi*(χ)型**，或以在 1964 年提出这个模型的科学家的名字命名为**Holliday 中间体**(Holliday intermediate)，或**Holliday 连接**(Holliday junction)(图 3-11d)。*chi* 型可通过一个限制性内切核酸酶裂解每个染色单体中未切断的链转换为两个线性的 DNA 分子。产生的 DNA 分子相互重组(图 3-11e)。*Ruv*C 限制性内切核酸酶在特殊的四核苷酸序列 5′-(A/T)TT(G/C)-3′的 T 和(G/C)之间切断。如果在 Holliday 连接处没有合适的四核苷酸序列，RuvAB 蛋白复合物可促进 Holliday 连接移动到含有可被 *Ruv*C 剪切的染色体的四核苷酸序列区域。

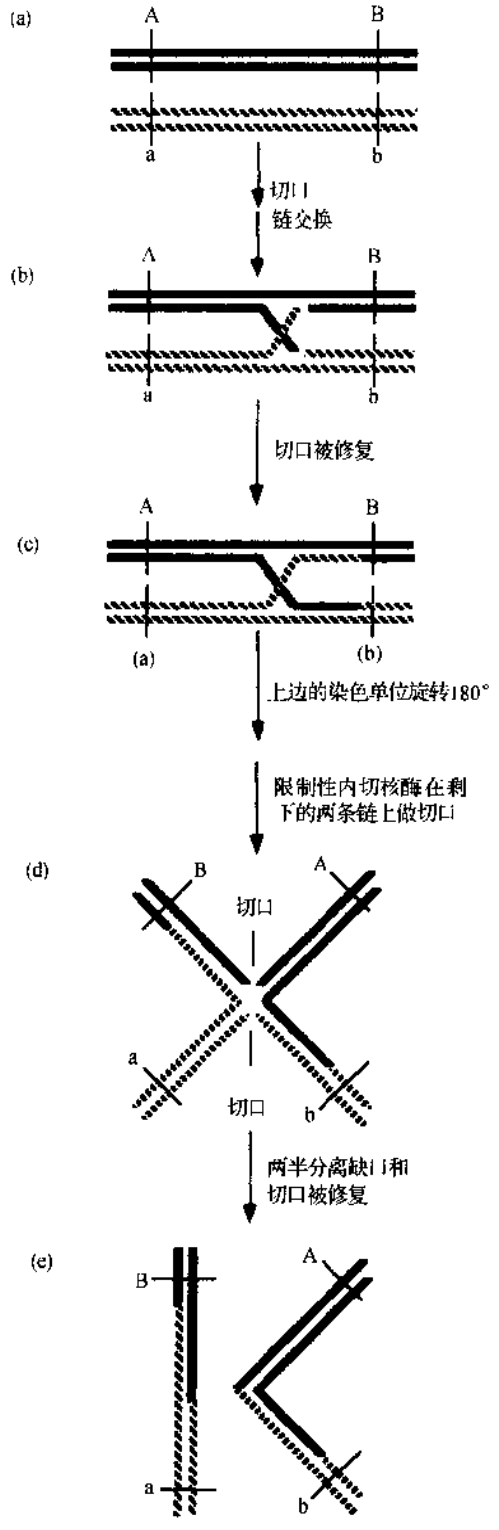


图 3-11　非特异重组和 Holliday 中间体(*chi* 或 χ 型)的形成。(a)两个同源染色单体联会；(b)每个同源染色单体的一条链被切断并被交换；(c)DNA 合成可延伸已交换的链，以至 DNA 切口修复。上面的染色单体旋转 180°形成 Holliday 中间体；(d)酶复合物 *Ruv*AB 可促进分支移位，致使未切断的链被限制性内切核酸酶 *Ruv*C 在四核苷酸序列 5′-(A/T)TT(G/C)-3′处切断。这就是 Holliday 中间体；(e)染色单体未断链的切开形成了分开的重组染色单体。重组染色单体中的切口被连接酶修复。

复　习　题

选择题　选择一个最合适的答案。

1. 在间期细胞核中能被染色的丝状的DNA和蛋白质被称为(　)。　(a)螺线管　(b)核小体　(c)染色质　(d)多线染色体　(e)细线染色体
2. 正在复制的真核DNA具有(　)类型的结构。(a)伸展的核小体形式　(b)螺线管形式　(c)环状的螺线管形式　(d)裸露的DNA形式　(e)正超螺旋形式
3. (　)组蛋白不存在于核小体中。(a)H1　(b)H2a　(c)H2b　(d)H3　(e)H4
4. (　)组蛋白与螺线管形式和伸展的核小体形式之间的转换有关。(a)H1　(b)H2a　(c)H2b　(d)H3　(e)H4
5. 在有丝分裂过程中划分真核染色单体所需的DNA序列是(　)。　(a)端粒　(b)动粒　(c)中心体　(d)着丝粒　(e)中心粒
6. 纺锤体纤维(微管)与之结合的真核染色体上的蛋白质结构是(　)。　(a)端粒　(b)动粒　(c)中心体　(d)着丝粒　(e)中心粒
7. 酿酒酵母中着丝粒大约有(　)。　(a)12bp　(b)120bp　(c)1200bp　(d)12 000bp　(e)120 000bp
8. 非洲粟酒裂殖酵母中着丝粒大约有(　)。　(a)40bp　(b)400bp　(c)4000bp　(d)40 000bp　(e)400 000bp
9. 人类染色体上每个动粒约结合(　)微管。(a)1　(b)15　(c)50　(d)68　(e)102
10. 端粒DNA的一条链由(　)重复单位构成。(a)5′-TTGGGG-3′　(b)5′-AAAAAAA-3′　(c)5′-TTTTTTTTT-3′　(d)5′-TATATATA-3′　(e)以上没有
11. 线粒体DNA的复制是从(　)。　(a)单一*ori*位点双向进行的　(b)两个不同*ori*位点在同一方向进行　(c)两个不同*ori*位点在不同时间以相反方向进行　(d)许多位点双向进行的,同核染色体一样　(e)以上没有
12. 叶绿体DNA的复制是从(　)。　(a)单一*ori*位点双向进行的　(b)两个不同*ori*位点在同一方向进行　(c)两个不同*ori*位点同时以相反方向进行　(d)许多位点双向进行的,同核染色体一样　(e)以上没有
13. 异染色质是(　)形式的DNA。(a)裸露的DNA形式　(b)伸展的核小体形式　(c)螺线管形式　(d)环状的螺线管形式　(e)以上没有
14. 较高级的真核生物大约有(　)基因。(a)10 000　(b)100 000　(c)1百万　(d)1千万　(e)一亿
15. 在真核生物中,后随链DNA是由(　)DNA聚合酶合成的。(a)α　(b)β　(c)γ　(d)δ　(e)ε
16. 下列(　)成分存在于核仁中。(a)rDNA　(b)45S rRNA　(c)5.8S、18S和28S rRNA　(d)rRNA-蛋白质复合物　(e)以上都有
17. 在细菌中,(　)酶对双链DNA进行解链(直至其遇到χ位点),然后切断DNA的一条链。(a)RecA　(b)RecBCD　(c)UvrABC　(d)UvrD　(e)DnaB
18. 在细菌中,(　)酶与DNA单链结合,使双链DNA变性并使该DNA单链与已变性的互补DNA配对。(a)RecA　(b)RecBCD　(c)UvrABC　(d)UvrD　(e)DnaB
19. Holliday中间体也被称为(　)。(a)α型　(b)β型　(c)γ型　(d)δ型　(e)χ型

是非题　正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 正超螺旋DNA可被拓扑异构酶转换成非超螺旋DNA。

2. 越是正超螺旋 DNA，其双螺旋越是易于被解旋酶解链。
3. 拓扑异构酶Ⅱ能把新合成的细菌染色体相互分开。
4. 中期染色体是端着丝粒的，它具有很短的或没有可见的 p 臂。
5. 中期染色体最短的"臂"是 p 臂。
6. 不用染色在光学显微镜下就可看到中期染色体上的条带。
7. 蛙(*Rana pipiens*)具有的 DNA 比人类(*Homo sapiens*)要多。
8. 大肠杆菌中复制起始位点约为 245bp 长。
9. 复制的起始位置也称为复制叉。
10. 在细菌中，前导链 DNA 和后随链 DNA 的合成是由同一类型的 DNA 聚合酶催化的。
11. 在细菌中，由 *dnaG* 编码的 RNA 聚合酶Ⅲ被称为引发酶。
12. 核仁组织者位于核仁内。
13. 真核生物中的引发酶与 DNA 聚合酶 δ 结合。
14. 真核生物 DNA 复制的起始需要转录因子，如 E2F。
15. 真核生物 DNA 复制的起始需要转录激活物，如 Fos 和 Jun。
16. 线粒体染色体编码的产物比叶绿体染色体编码的产物要多。
17. 多线染色体由 1000 个螺线管形式的染色体构成。
18. 胀泡与灯刷染色体结合。
19. 多线染色体的条带只有在染色体被染色的情况下才能看到。
20. 在非特异重组的第一个阶段，RecA 蛋白质与 DNA 单链结合，并使该 DNA 与互补 DNA 配对。
21. 在两个染色体之间的非特异重组，需要它们相互具有短的完全相同的位点，在该位点中发生交换。

匹配题 在下列每个配对组中，B 栏中的每个项目可与 A 栏中标号的描述相配对。一个项目可用于一个以上的描述。

A 栏	B 栏
1. 在有丝分裂过程中在光学显微镜下可以看到的染色体结构	A. 灯刷染色体
2. 在减数分裂过程中存在的正在合成许多 mRNA 的染色体	B. 伸展的核小体形式
3. 在某些昆虫幼虫唾液腺中存在的染色体	C. 螺线管形式
4. 被复制或被转录时染色体具有的结构	D. 环状螺线管形式
5. 在间期染色体具有的结构	E. 多线染色体

A 栏	B 栏
6. 在线性真核染色体末端存在的 DNA	A. 核仁组织者
7. 在真核染色体上与纺锤体纤维结合的蛋白质结构	B. 着丝粒
8. 一个动粒存在的 DNA 位点	C. 端粒
9. 在真核生物中，转录因子和转录激活物结合 DNA 位点	D. 动粒
10. 作为核糖体 DNA(rDNA)合成和扩增模板的 DNA 序列	E. 复制起点

A 栏	B 栏
11. 合成真核 DNA 前导链的酶	A. 端粒酶
12. 从 DNA 上除去正超螺旋扭转的酶	B. DNA 聚合酶 δ
13. 维持真核染色体末端的酶	C. DNA 聚合酶 α
14. 对双螺旋双链进行解链的酶	D. 拓扑异构酶

15. 合成真核 DNA 后随链的酶

E. 解旋酶

A 栏	B 栏
16. 减数分裂中交叉显现的阶段	A. 细线期
17. 减数分裂中同源染色体联会的阶段	B. 偶线期
18. 减数分裂中灯刷染色体最活跃的阶段	C. 粗线期
19. 减数分裂中实际形成交换的阶段	D. 双线期
20. 减数分裂中 RNA 被大量合成的阶段	E. 终变期

A 栏	B 栏
21. 类固醇激素受体	A. 螺旋-转角-螺旋
22. 同源蛋白质	B. 锌指
23. 转录激活物蛋白质,如 Fos 和 Jun	C. β带
24. 存在于细菌中的许多调节蛋白质(Lac 阻抑物,Trp 阻抑物,λ阻抑物和 Camp-受体蛋白质)	D. 亮氨酸拉链

术语　除非特殊指明,每个答案为一个词。

1. 向 DNA 中引入负超螺旋的酶。(两个词)
2. 在间期不解凝聚的 DNA。
3. 在完全凝聚的真核染色体中蛋白质中心核(包括拓扑异构酶)
4. 在间期不解凝聚的 X 染色体。(两个词)
5. 线性真核染色体的末端
6. 在细胞分裂过程中,正确分割所需的真核染色体上的位点。
7. 维持和完成真核染色体末端所需的酶。
8. 真核染色体复制起始位点。(三个词)
9. 作为端粒酶模板的分子。
10. 用于描述着丝粒在一个末端的染色体的形容词。
11. 真核前 RNA 分子(需拼接后形成 mRNA)的编码蛋白质的区域。
12. 在大肠杆菌 *oriC* 位点中与九聚体结合的蛋白质。
13. 染色体链被解链的和 DNA(在某种情况中,是引物 RNA)被连续合成的区域。(两个词)
14. 在 DNA 复制过程中,被 DNA 连接酶接合的后随链的短片段。(两个词)
15. 对 DNA 的两条链进行解旋的酶。
16. 线粒体复制 DNA 的酶。(两个或三个词)
17. 多线染色体上 RNA 合成(转录)的伸展的区域。
18. 以螺旋-转角-螺旋域与 DNA 结合的和决定一个动物节片特征的 DNA 结合蛋白质。(一个或两个词)
19. 编码某些 DNA 结合蛋白质螺旋-转角-螺旋域的 DNA。
20. 在两条同源染色单体被相互重组后形成的中间体。(两个词)

答　案

选择题

1. c **2.** a **3.** a **4.** a **5.** d **6.** b **7.** b **8.** d **9.** b **10.** a **11.** c **12.** c **13.** d **14.** b **15.** a **16.** e **17.** b **18.** a **19.** e。

是非题

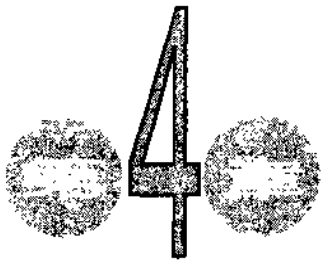
1. T **2.** F(超螺旋) **3.** T **4.** T **5.** T **6.** F(必须染色才能看到带) **7.** T **8.** T **9.** F(复制叉是 DNA 被聚合的位置) **10.** T **11.** T **12.** F(核仁组织者是染色体上编码 rRNA 的 DNA 区域;核仁组织者不存在于与染色体分离的核仁内) **13.** F(引发酶与 DNA 聚合酶-α 结合) **14.** T **15.** T **16.** F(叶绿体染色体编码 70 到 120 个蛋白质,而线粒体染色体只编码约 13 个蛋白质) **17.** T **18.** F(胀泡与存在于某些昆虫幼虫中的多线染色体结合) **19.** F(多线染色体的条带不用着色就可在光学显微镜下看到) **20.** T **21.** F(需要长的同源性片段)。

匹配题

1. D **2.** A **3.** E **4.** B **5.** C **6.** C **7.** D **8.** B **9.** E **10.** A **11.** B **12.** D **13.** A **14.** E **15.** C **16.** D **17.** B **18.** D **19.** C **20.** D **21.** B **22.** A **23.** D **24.** A

术语

1. DNA 回旋酶 **2.** 异染色质 **3.** 支架 **4.** Barr 氏体 **5.** 端粒 **6.** 着丝粒 **7.** 端粒酶 **8.** 自主复制序列 **9.** RNA **10.** 端着丝粒 **11.** 外显子 **12.** DnaA **13.** 复制叉 **14.** 冈崎片段 **15.** 解旋酶 **16.** DNA **17.** 胀泡 **18.** 同源蛋白质 **19.** 同源框 **20.** Holliday 中间体或 χ 型



转录与基因调控

导　言

有机体的特征是由遗传信息决定的，而且遗传信息对环境做出应答。分子遗传学的**中心法则**(central dogma)是由 Francis Crick 在 20 世纪 50 年代中叶首先提出的，他认为：DNA 中的信息通过**转录**(transcription)过程被用于生成 RNA 分子；而后，某些 RNA 中的信息通过**翻译**(translation)过程被用于生成蛋白质。**基因表达**(gene expression)总是与转录有关，而绝大多数的基因表达也需要翻译过程。DNA 模板的转录由 RNA 聚合酶来完成，而 RNA 的翻译是由与核糖体结合的酶类来催化的。在有机体发育和(或)维持的过程中以及在对环境作出反应的过程中合成的 RNA 分子和蛋白质决定着有机体的特征。

合成特殊 RNA 的信息只位于两条 DNA 链中的一条链中。含有生成 RNA 分子信息的和被 RNA 聚合酶"阅读"的这条链称为**模板链**(template strand)，或**模板**(template)。有些作者称模板链为**有义链**(sense strand)，这是因为它含有把核苷酸聚合成 RNA 的信息。有时，与模板互补的 DNA 链也被称为**无义链**(nonsense strand)，即它不提供生成 RNA 或蛋白质的信息。然而，并不是所有编码 RNA 的模板只存在于同一条 DNA 链上。某些编码 RNA 的模板存在于这一条链，而其他的则存在于另外一条链。编码蛋白质合成信息的 RNA(mRNA)称为**有义 RNA**(sense RNA)，而与有义 RNA 互补的 RNA 称为**反义 RNA**(antisense RNA)。

编码 rRNA、tRNA 和许多不同的 mRNA 的基因是被调控的，致使它们的表达是在合适的时间和在维持细胞或促进其生长和增殖所需的水平上进行的。在某些有害的条件下，如营养素极度缺乏，许多基因可关闭，只有那些维持细胞生存所必需的基因继续表达。此外，许多研究显示：环境中或细胞中的化学物质调节着基因的表达。

☞ 例 4.1

如果环境中不含有某种特殊的糖(如阿拉伯糖)，细菌则不表达那些与运输这种糖进入细胞有关的基因，也不表达与分解这种糖的酶类有关的基因。另一方面，如果环境中存在这种糖，细菌则生产那些与把这种糖运输进入细胞有关的酶类，以及与其浓缩有关的酶类和与启动其分解代谢有关的酶类。

本章涉及转录的机制和基因表达的初级产物如何被加工成为有功能的形式，以及这些功能如何被调节的。首先，讨论原核生物中的转录和基因调节，然后，讨论真核生物中的转录和基因调节。

原核生物中的转录与基因调控

结构基因：调控位点和操纵子

4.1　在结构基因和顺反子之间有何不同？

结构基因(structural gene)是作为 RNA——如转运 RNA(tRNA)、核糖体 RNA(rRNA)

和信息 RNA(mRNA)一一合成模板的 DNA 核苷酸序列。原核生物中编码蛋白质的结构基因的平均长度约为 1000 碱基对。而真核生物中的结构基因平均为 10 000 碱基对,这主要是由于存在大量的非编码序列(内含子)的缘故。**顺反子**(cistron)是由**顺/反实验**(cis/trans test)所定义的结构基因(图 6-6)。顺/反实验与顺突变和反突变有关。顺式突变是连锁的(在同一 DNA 分子上),而反式突变是非连锁的并且存在于不同的染色体上。在二倍体有机体中可用两个突变来定义结构基因(或顺反子),两个反式突变导致一个突变体表型,而两个顺式突变导致野生型(正常)表型。此外,顺反子是编码 RNA 的结构基因,或是编码可影响顺式和反式基因表达的蛋白质结构基因。这可以从只影响顺式基因的调控位点来区别它们(见问题 4.3)。

4.2 什么是调节蛋白质?

调节蛋白质(regulatory protein)(被调节基因所编码)是这样的一类蛋白质:它们可与位于结构基因附近的调控位点(见问题 4.3)结合,通过激活转录或抑制转录来影响结构基因的表达。刺激基因转录的调节蛋白质可分为两类:**转录因子**(transcriptional factor)和**转录激活物**(transcriptional activator)。有时,这些蛋白质被简单地称为**激活物**(activator)。**阻抑物**(repressor)是一类可与名为**操纵基因**(operator)的调控序列结合而抑制转录起始的蛋白质。终止转录的蛋白质称为**终止子**(terminator)。一般来讲,激活物促进 RNA 聚合酶与结构基因起始部位 DNA 上的启动子位点结合,而阻抑物抑制 RNA 聚合酶的结合。

4.3 什么是调控位点?

调控位点(controlling site)是短的 DNA 核苷酸序列,通常长度为 15~30 碱基对;它只调控其顺式基因的表达,而不调控其反式基因的表达。调控位点可分为:启动子位点(启动子)、操纵基因位点(操纵基因)、起始子位点(起始子)、弱化子位点(弱化子)、以及转录终止子位点(终止子)。在大多数情况中,调节蛋白质或 RNA 聚合酶与调控位点结合。

调控位点是通过突变的不同影响从调节物基因(顺反子)分化而来。调控位点中的突变只影响其顺式基因的表达,而调节物基因中的突变可影响其顺式和反式基因的表达。调控位点的更多信息见问题 4.6。

4.4 什么是操纵子?

结构基因和调节这些基因转录速率的调控位点称为**操纵子**(operon)(图 4-1)。最小的操纵子由一个结构基因和一个**启动**子(promoter)构成;启动子是 RNA 聚合酶结合位点。这些操纵子是**组成性的**,即它们任何时候都是表达的;而且,其表达的水平完全取决于 RNA 聚合酶与启动子结合的效率。在图 4-1 中所示的调节操纵子是简单操纵子的一个例子。某些简单的操纵子可被一个弱化子位点所调节;弱化子编码一个 RNA,该 RNA 可导致 RNA 聚合酶过早地终止转录。在问题 4.6、4.10 和 4.35 中讨论弱化作用的进一步细节。

然而,细菌中大多数操纵子由大量的结构基因和调控位点构成。由于最初被研究的操纵子都含有操纵基因和被阻抑物所关闭[即被**负调控**(negative control)],因而认为所有的操纵子都含有操纵基因。因此,操纵子最初被定义为在操纵基因调控下的一个或多个结构基因。然而,这个定义没有考虑到只被激活物调节的结构基因或被 RNA 聚合酶与启动子位点结合的效率所调节的结构基因。与组氨酸生物合成有关的组氨酸操纵子既不受阻抑物的调节也不受操纵基因的调节;它只被一个弱化子位点特异地调节。显而易见,操纵基因不属于操纵子的定义范畴。操纵子是一个或多个结构基因(编码 RNA)协同表达,因为它们在单个启动子位点的控制之下。

在细菌中,许多操纵子含有一个以上的结构基因,或顺反子。这些**多顺反子操纵子**(polycistronic operon)被转录成为一条 mRNA,这条单个的 mRNA 称为**多顺反子 mRNA**(polycis-

tronic mRNA)。多顺反子 mRNA 中的每个蛋白质编码区域被一个起始密码子(相邻三个核苷酸一组,蛋白质的合成在此起始)和一个无义密码子(蛋白质的合成在此被终止)所定义。真核生物中的操纵子基本上是单顺反子,即它们只含有一个基因。

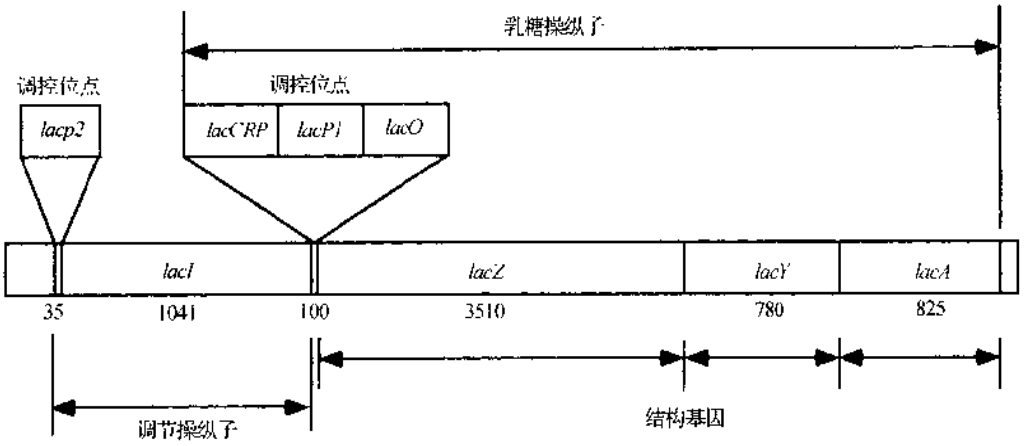


图 4-1　调控乳糖操纵子的小调节操纵子,以及与乳糖分解代谢有关的大乳糖操纵子。调节操纵子由一个调控位点(*lacP2*)和一个结构基因(*lacI*)构成。乳糖操纵子由三个调控位点(*lacCRP*、*lacP1* 和 *lacO*)和三个结构基因(*lacZ*、*lacY* 和 *lacA*)构成。调控位点很小,每个长约为 35 碱基对(bp)。结构基因的大小范围是 780bp～3 510bp。RNA 聚合酶与启动子位点(*lacP1* 和 *lacP2*)结合;环一磷酸腺苷(cAMP)受体蛋白质与激活物结合位点(*lacCRP*)结合。*lacI* 基因编码阻抑物蛋白质的一个亚单位;该阻抑物蛋白质与操纵基因位点(*lacO*)结合,并抑制从 *lacP1* 的转录。

4.5　什么是调节子?

调节子(regulon)是在调节蛋白质调控下的一组操纵子。调节子的操纵子一般并不相邻。一个重要的调节子称为 **SOS 调节子**(它对细胞的危险作出反应),在 DNA 有损伤的时候被诱导。SOS 调节子是在 *lexA* 基因编码的阻抑物蛋白质的控制之下。LexA 蛋白质抑制四个操纵子:一个编码 RecA 蛋白质,另一个编码 UvrA 蛋白质,第三个产生 UvrB 蛋白质,第四个编码 UvrC 蛋白质。另外,LexA 蛋白质对其自身的操纵子也进行抑制[一个**自身调节**(autoregulation)的例子]。RecA 蛋白质与 DNA 的修复和重组有关。UvrABC 核酸酶在被紫外线损伤的 DNA 修复方面是非常重要的。

DNA 的损伤(形成 DNA 单链区域)可激活 RecA 蛋白质的蛋白酶活性。激活的 RecA 蛋白质降解 LexA 蛋白质,因而导致所有被 LexA 蛋白质封闭的操纵子**去抑制**(derepress)(活化)。

4.6　所有调控位点是否以同样的方式调节基因表达?

至少有五类调控位点。一些调控位点仅为调节蛋白质的结合位点。调节蛋白质与调控位点结合的例子是启动子、操纵基因和起始子。依 DNA 模板聚合 RNA 分子的 RNA 聚合酶与启动子结合在这些位点附近启动转录。激活物蛋白质与**起始子**(initiator)位点结合,促进 RNA 聚合酶与启动子结合,由此增强转录的起始。

名为**弱化子**(attenuator)和**终止子**(terminator)的其他调控位点编码 RNA 与 RNA 聚合酶相互作用的区域,通常导致 RNA 聚合酶终止转录。通常弱化子位点位于新合成的 RNA 分子的 5′末端附近。在其活性状态,**弱化子**阻止进一步的转录。弱化子也可存在于基因(操纵子)簇(它们同时开启或关闭)的中间,**弱化子**允许那些转录为单个 mRNA 的基因被特异表达。终止子位点存在于一组基因或一个基因的末端。如其名字所示,终止子使转录结束。某些终止子不仅与 RNA 聚合酶相互作用,也与激活该过程的终止蛋白质结合。

转录:起始与终止

4.7 结构基因的转录有何要求?

在基因的开端附近只要有一个 RNA 聚合酶结合的启动子位点,结构基因的转录就能发生(图 4-2)。在细菌中,RNA 结合位点(启动子位点)的长度通常为 15～30 碱基对。启动子的碱基对序列决定着其与 RNA 聚合酶结合的效率和转录的效率。启动子是决定性的位点,它不仅决定着是否转录,也决定着在此转录被起始的速率(即转录发生的频度,而不是生成转录物的速度)。

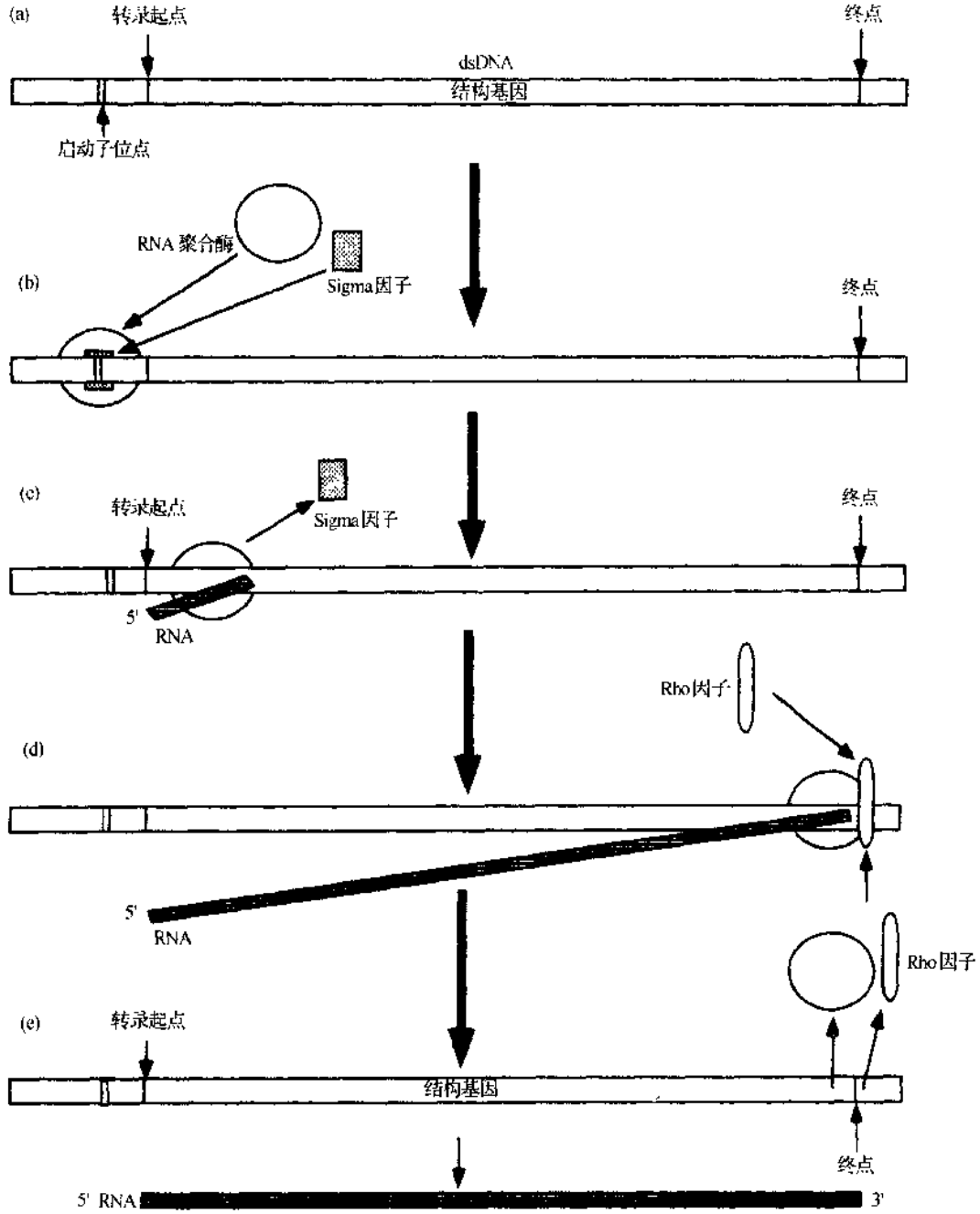


图 4-2 Sigma(σ)因子和 Rho(ρ)因子的作用。(a)图示由一个启动子、一个结构基因和终止位点构成的一个操纵子。开始位点和终止位点影响转录。(b)Sigma(σ)因子(蛋白质)与 RNA 聚合酶结合并刺激聚合酶与启动子位点的结合。没有 Sigma(σ)因子,RNA 聚合酶不能有效的与启动子位点结合。(c)RNA 聚合酶开始转录后不久,Sigma(σ)因子与该酶分离。(d)当 RNA 聚合酶到达终止位点,转录停止;Rho(ρ)因子(蛋白质)与 RNA 聚合酶结合并促进该酶与 DNA 分离和 RNA 的释放。(e)RNA 聚合酶、Rho(ρ)因子和从 DNA 分离出来的新生的 RNA。

4.8 通常什么蛋白质与原核启动子区域结合?

在多数情况下,RNA 聚合酶与细菌启动子位点的结合,依赖于一个被称为 **σ 因子**(sigma factor)(图 4-2)的蛋白质家族。σ 因子是转录因子。一般来讲,一个细菌细胞具有大量的不同的 σ 因子。每种类型决定着 RNA 聚合酶可识别的启动子种类。对于与大多数启动子有效结合来讲,σ 因子和 RNA 聚合酶均是必需的。在转录起始以后,σ 因子与 RNA 聚合酶分离。由于 σ 因子是作为激活物在起作用的,显然激活物结合位点可与启动子位点重叠。

虽然原核启动子位点之间有显著的不同,但是对于大多数启动子均具有两个短的区域。在转录起始位点前约 10 碱基对(−10 序列)无义链(与模板链互补的链)上的一个区域具有共有序列 5′- TATAAT - 3′,而在转录起始位点前约 35 碱基对(−35 序列)的一个区域具有共有序列 5′- TTGACA - 3′。**共有序列**(consensus sequence)含有在各种原核生物及其病毒中最常见的核苷酸序列。−10 序列称为 **Pribnow 框**,它与存在于真核生物启动子中的 TATA 框(在问题 4.39 中讨论)在外观上较为相似,而 −35 序列称为**识别序列**(recognition sequence)。细菌及其病毒的启动子通常由一个富含 AT 碱基对(10/12)的中央序列和两侧富含 GC 碱基对(10/12 和 8/12)的序列构成。

4.9 调节蛋白质结合的每个调控位点的功能是什么?

通常,基因的转录被阻抑物蛋白质所阻断;该蛋白质与基因开端附近的操纵基因结合并干扰 RNA 聚合酶与启动子的结合及其行进(图 4-3)。因此,阻抑物被归入调节蛋白质。细菌中阻抑物结合位点的长度常为 15～30 碱基对。操纵基因位点可与启动子位点不同,或它们可相互重叠。操纵基因位点是重要的调控位点,这是由于阻抑物与它们结合可使转录减少 100 多倍。转录的水平依赖于阻抑物和它们调控位点的结构。

基因的表达需要一个以上的激活物结合在基因的开端附近。激活物也被认为是调节蛋白质,这是由于它们与 DNA 的结合可使转录提高 100～1000 倍。激活物结合位点已有许多不同的名字。细菌中激活物结合位点也被称为起始子位点(起始子)或被认为是启动子位点的一部分。

细菌中激活物结合位点的长度常为 15～30 碱基对。有些与启动子不同,而有些也许是启动子的一部分。激活物和 RNA 聚合酶可与 DNA 的相同片段结合的事实导致巨大的混淆:到底什么是启动子位点?在某些情况下,与 RNA 聚合酶结合位点相邻的激活物结合位点是启动子的一部分。为了简便,我们要把启动子位点定义为 RNA 聚合酶结合位点,把**启动子区域**(promoter region)定义为对于有效的转录起始所需的邻近启动子位点的任何核苷酸序列。

激活物显现不同的功能。有些是 RNA 聚合酶与合适的启动子位点结合所需的,如:细菌的 σ 因子和真核转录因子(在问题 4.37 中讨论)。RNA 聚合酶初步结合的是与双链 DNA 结合。其他激活物是启动子区域开始解旋所需的,如细菌 CRP(在问题 4.11 和 4.21 中讨论)和真核转录激活物(在问题 4.37 中讨论)。某些激活物可帮助 RNA 聚合酶与单链模板结合和/或阻止 DNA 无义链的转录。

4.10 弱化子和终止子如何影响转录?

弱化子和终止子是 RNA 分子上的区域,它形成与正在转录的 RNA 聚合酶相互作用的二级和三级结构。这种与 RNA 聚合酶的相互作用使其与 DNA 分离,并释放新生的(新合成的)RNA。mRNA 的前导区域和弱化子区域将在问题 4.35 中涉及色氨酸操纵子内容时详细讨论。

大多数 mRNA 分子末端的弱化子编码一个单链区域,该区域可通过在互补碱基对之间形成氢键而自身折叠;并编码一个含有大量尿嘧啶的最后区域(polyU)。发卡结构与 RNA 聚合酶相互作用并刺激其与 DNA 分离。一些终止子需要**终止子蛋白质**(terminator protein)(如

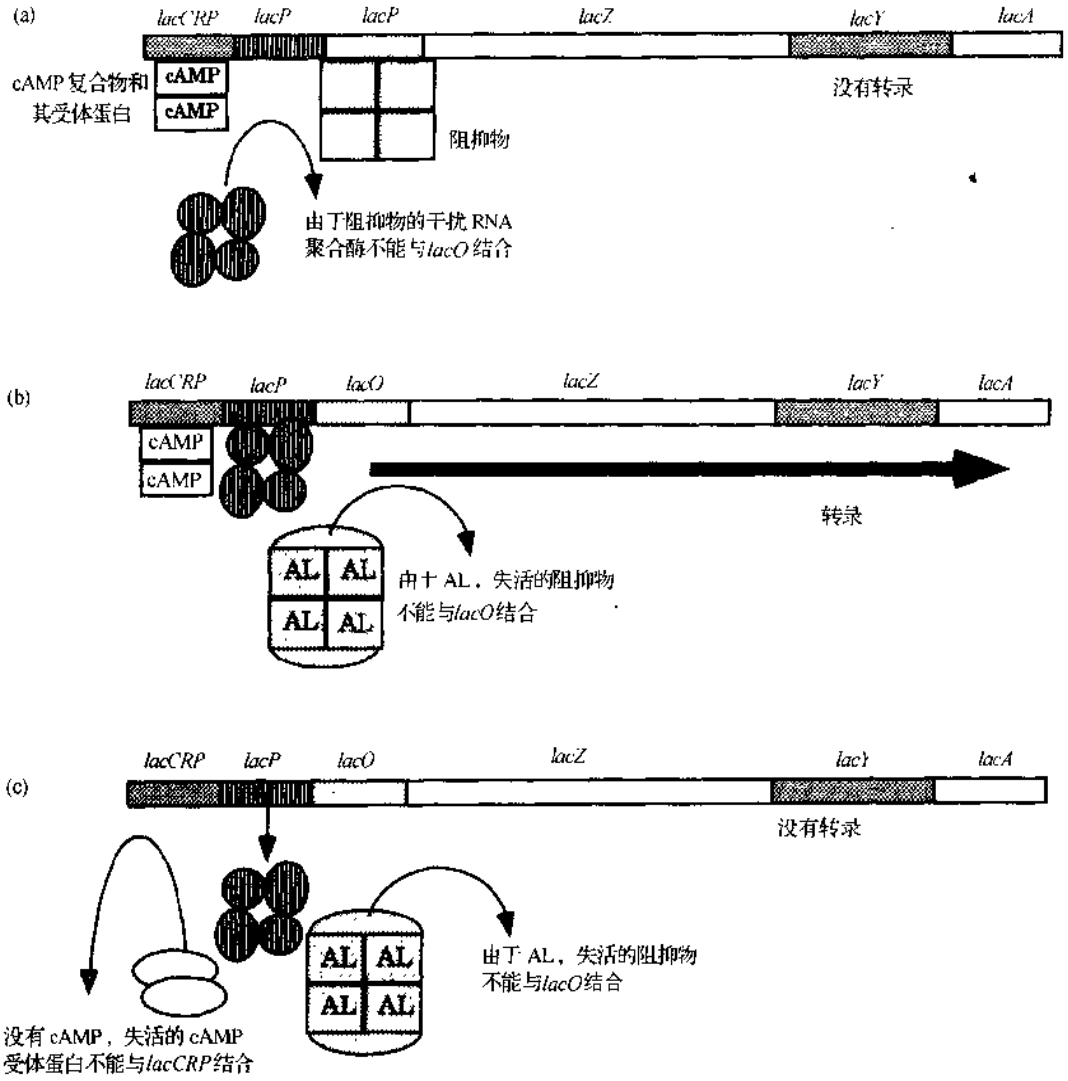


图 4-3　调控位点和调节蛋白质。(a)若乳糖不存在，阻抑物蛋白质可与操纵基因(*lacO*)结合并通过干扰RNA聚合酶的结合阻断转录。(b)若异乳糖(AL，乳糖的一个变形)存在，阻抑物蛋白质不能与操纵基因结合。异乳糖与阻抑物的结合导致蛋白质变构使其不能识别启动子位点。如果合成代谢和糖的转运程度低下，环一磷酸腺苷(cAMP)水平增高。该效应物与cAMP受体蛋白质(CRP)结合并把它转化成能与*lacCRP*结合的构型。CRP-cAMP复合物与*lacCRP*结合刺激RNA聚合酶的结合及转录的起始。(c)高合成代谢率耗尽细胞的cAMP。没有cAMP，CRP不能刺激RNA聚合酶的结合。因此，即使有异乳糖的存在，也没有转录发生。

Rho)来活化(图4-2)。这些Rho依赖的终止子在其3′末端缺乏一个polyU区域。由六个相同亚单位构成的Rho与RNA结合。它沿着RNA"行进"直到遇到在终止子位点停滞的RNA聚合酶；然后，它催化RNA聚合酶和它本身的释放。有时，由于在mRNA末端形成的抑制聚合酶活性的发卡结构，RNA聚合酶也会停滞。**NusA**蛋白质是另一个终止因子，它似乎直接与RNA聚合酶结合并在其到达终止位点的时候催化其释放。

4.11　化学物质如何调节操纵子?

当某些化学物质与调节蛋白质结合，它们可引起蛋白质构象改变，致使该蛋白质与DNA的结合能力发生变化。

☞ **例 4.2**

当半乳糖与半乳糖操纵子的阻抑物结合，这导致阻抑物构象改变成一个不能与 DNA 结合的形式。由于这个失活的阻抑物不能阻止 RNA 聚合酶与启动子位点结合，半乳糖操纵子被表达。

大量与糖降解有关的操纵子不仅需要它们的阻抑物失活，还需要一个通用的调节蛋白质的活化。这个通用的激活物是一个 **cAMP 受体蛋白质**(cyclic AMP receptor protein)，称为 CRP(图 4-3 和 4-4)。这个蛋白质也被称为**代谢物激活物蛋白质**(catabolite activator protein)或 CAP。当 CRP 与 cAMP 结合，CRP 发生构象变化，这个变化促进其与激活物结合位点结合。CRP-cAMP 复合物与激活物位点的结合是 RNA 聚合酶能够与 DNA 结合所必需的也是启动转录所必需的。没有 cAMP，CRP 不能与 DNA 结合，因此它也不能激活大量的操纵子。

4.12 什么是效应物?

一个**效应物**(effector)是一个小分子，如氨基或糖，它能与调节蛋白质结合并改变该蛋白质的活性。例如，半乳糖与半乳糖操纵子的阻抑物结合使阻抑物失活。

4.13 什么是诱导物?

一个诱导物是任何可以打开操纵子的物理的或化学的因素(光、热、氨基酸、糖等等)。有些诱导物并不是所诱导酶的底物。

☞ **例 4.3**

乳糖诱导、或打开、乳糖操纵子的表达。换句话说，乳糖在乳糖操纵子中引起结构基因的转录。乳糖在乳糖操纵子中结构基因与乳糖向细胞内转运和将其分解为半乳糖和葡萄糖有关。乳糖不仅被 β-半乳糖苷酶裂解，也可被转化为叫做异乳糖的其他二糖(图 4-4c,d)。由于**异乳糖**(allolactose)与阻抑物结合并使阻抑物失活，因此，它是乳糖操纵子的一个效应物。这种抑制的解除(去抑制)导致该操纵子的表达。乳糖是乳糖操纵子的一个诱导物，但是，它不是一个效应物，这是因为它不与阻抑物结合。在它对乳糖操纵子施以任何影响之前，乳糖必须被转化成异乳糖。所以，缺乏 β-半乳糖苷酶的细胞不能被乳糖诱导。在使乳糖操纵子启动的过程中，一些读者也许看到了自相矛盾的地方，这将在问题 4.17 讨论"暗中合成"现象时予以解释。

☞ **例 4.4**

化学物质**异丙基-β-D-硫代半乳糖苷**(isopropyl-β-D-thiogalactoside，IPTG)既是乳糖操纵子的诱导物也是效应物。尽管 IPTG 与阻抑物结合并使它失活，但是，IPTG 由于其硫的成分并不被 β-半乳糖苷酶所裂解。

4.14 为什么细胞进化出如此复杂的调节它们基因的机制?

调节蛋白质和调控位点允许细胞通过阻止非需要的基因表达或只进行必要的转录，来保存能量。例如，如果在环境中或细胞中不存在糖，就不需要分解它们的酶类。阻抑物使细胞不再浪费能量来制造没有用处的 mRNA 和酶类。然而，如果向环境中加入糖，糖与阻抑物结合使其迅速失活。这就使得糖代谢的酶类和 mRNA 被生成。

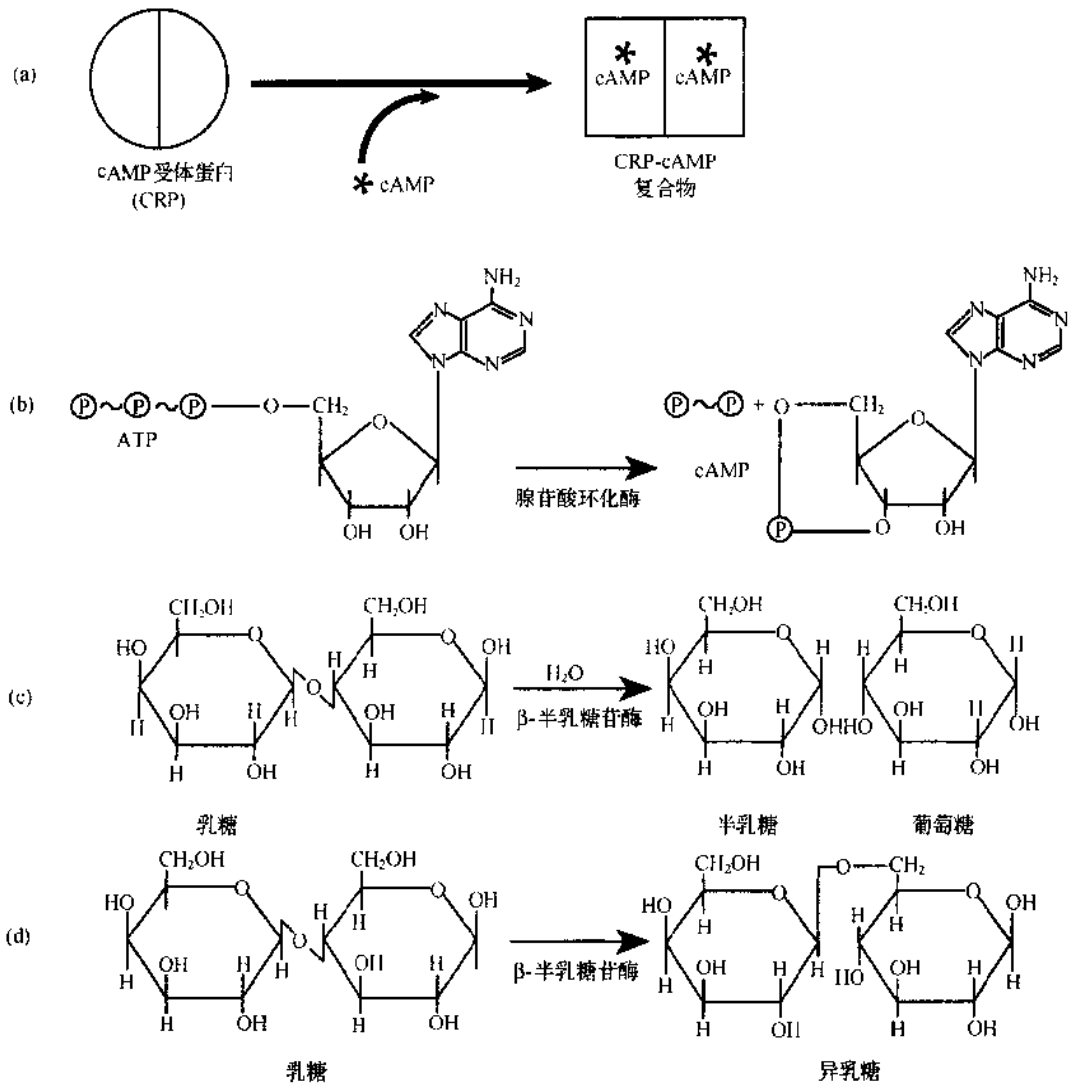


图 4-4 影响乳糖操纵子的效应物。(a)cAMP 受体蛋白质(CRP)结合两分子 cAMP。当没有 cAMP，CRP 不能与乳糖操纵子结合。CRP-cAMP 复合物与乳糖操纵子结合并激活转录。(b)ATP 被腺苷酸环化酶转换为 cAMP。(c)一般来讲，β-半乳糖苷酶(乳糖酶)催化乳糖水解成乳糖和葡萄糖。(d)通过 β-半乳糖苷酶产生很小量的异乳糖。异乳糖是一个诱导物也是效应物，这是由于它与四聚体的阻抑物(R)结合导致该阻抑物构象发生变化并与启动子位点分离。

如果一个细胞代谢过度，调节蛋白质和调控位点就可提供一个机制；该机制就能使细胞控制其代谢。对于任何细胞，它将决定是否把所有的资源和能量用于一个代谢途径。细胞的维持、生长和繁殖需要许多代谢途径在一个适当的水平运行。化学效应物与调节蛋白质结合，以及调节蛋白质选择性地和已与代谢途径连在一起的调控位点结合，协助维持细胞内的平衡，并使得细胞对环境作出适应性的反应。

乳糖系统

4.15 什么是乳糖操纵子？它有什么功能？

乳糖操纵子(lactose operon)由三个结构基因(*lacZ*、*lacY* 和 *lacA*)和三个调控位点(*lacCRP*、*lacP* 和*lacO*；图 4-1，图 4-3)构成。结构基因 *lacZ* 编码同四聚体(4 个完全相同的多肽链)酶 **β-半乳糖苷酶**(β-galactosidase，LacZ)的一个亚单位，而基因 *lacY* 编码**乳糖通透酶**(lactose transacetylase，LacY)，基因 *lacA* 编码乳糖转乙酰酶(LacA)。调控位点 *lacCRP*、*lacP* 和 *lacO* 分别是 cAMP 受体蛋白质、RNA 聚合酶和乳糖阻抑物的结合位点。

细菌中的乳糖分解代谢依赖于乳糖操纵子。乳糖通透酶把乳糖转运进细胞并将其浓缩，而**β-半乳糖苷酶**把乳糖裂解成半乳糖和葡萄糖。半乳糖被转化成葡萄糖，然后，葡萄糖通过各种途径进行代谢，如 Embden-Meyerhof 途径。乳糖代谢中转乙酰酶（在乳糖分子上加上乙酰基）的意义尚不清楚。

4.16 什么是乳糖调节操纵子？它的功能是什么？

乳糖调节操纵子（lactose regulatory operon）由一个结构基因（*lacI*）和一个调控位点（*lacP2*；图 4-1）构成。结构基因编码四聚体乳糖阻抑物的一个亚单位，而调控位点是一个 RNA 聚合酶结合的位点。若诱导物不存在，阻抑物与 *lacO* 结合并阻断 RNA 聚合酶与 *lacP1* 结合以及乳糖操纵子转录的起始。阻抑物也可阻断乳糖调节操纵子的转录；由于该阻抑物是其自身的产物，这也称为自身抑制。

4.17 在乳糖或任何其他诱导物不存在的情况下乳糖操纵子是如何调节的？

如果诱导物不存在，乳糖操纵子的表达通过在 *lacO* 结合的乳糖阻抑物而被抑制（图 4-3a）。阻抑物在空间上阻碍 RNA 聚合酶与 *lacP* 结合以及转录的起始。若由于细胞的生长和分裂使蛋白质被降解和稀释导致阻抑物的浓度降低，*lacO* 上一过性的没有了阻抑物，RNA 聚合酶就能够与 *lacP* 结合并启动转录。这种偶然的 mRNA 的合成是一种**暗合成**（sneak synthesis）。一条含有合成β-半乳糖苷酶、通透酶和转乙酰酶的信息 mRNA 被合成。这种类型的 mRNA 被称为多顺反子信使。一个多顺反子信使的翻译使这三个酶处于非常低的水平。这些低水平的酶称为**基础的酶水平**（basal enzyme level）。因此，细胞绝不会完全缺乏乳糖分解酶类。虽然，每个大肠杆菌细胞中只有约 15 个阻抑物分子，但他们可设法在构成细胞基因组的三百五十多万碱基对中找到单个的操纵基因位点。

4.18 诱导物如何开启乳糖操纵子？

当把诱导物异丙基-β-*D*-硫代半乳糖苷（IPTG；见例 4.4）加入能分解乳糖的细菌群体中，乳糖操纵子就被开启。在加入诱导物后的几分钟内，β-半乳糖苷酶、通透酶和转乙酰酶的产量升到最大值，并稳定地维持直到环境条件发生改变。IPTG 通过质膜中通透酶的作用被转运透过细胞膜而在细胞内聚集。请注意，细胞具有由乳糖操纵子编码的酶类基础水平。在几秒钟内，由于 IPTG 的结合细胞内所有阻抑物分子的构象发生变化成为无活性形式。由于这些失活的阻抑物不再与操纵基因结合，RNA 聚合酶可与启动子结合并启动转录（图4-3b）。一旦第一个 RNA 聚合酶启动了转录，另外一个 RNA 聚合酶立刻与该启动子结合并进行转录的启动。此后，乳糖操纵子被许多 RNA 聚合酶所转录。在第一个 mRNA 被完全形成之前翻译就已开始，并且每个 mRNA 可被翻译 40 多次。多拷贝 mRNA 的快速产生，以及每个 mRNA 反复的翻译导致酶产物快速的增加。酶水平可在 10～15 分钟内从 0.1 单位/mg 蛋白质/分升到 50 单位。

通常，酶活性单位是以光的吸收单位来度量的。例如，β-半乳糖苷酶的活性是通过下述方法来确定的：向细胞提取物中加入无色的化学物质——**邻位-硝基苯半乳糖苷**（ortho-nitrophenol galactoside，ONPG），然后，分析在一段时间内形成的黄颜色总量。黄颜色对光的吸收可用 Klett 比色计以 **Klett 单位**来度量。ONPG 可被β-半乳糖苷酶裂解为半乳糖和一个黄色的化合物——邻位硝基苯。与乳糖或 IPTG 不同，ONPG 不是乳糖操纵子的诱导物。

4.19 一个细胞的操纵子被诱导时会遇到什么调节问题？

如果生物合成不被调节，一个细胞将很快地出被诱导的 mRNA 和酶类所添满。由于这些分子的合成需要大量的能量（这些能量本应该用于修复或细胞的增殖），这将造成浪费和形成相反效果。另外，过度的分解代谢也是非常浪费的，这是由于整体的分解代谢物池将向细胞外

渗漏。如果环境中存在碳水化合物的混合物，为了使所有的碳水化合物充分地进行代谢，细胞将过度地生产转运蛋白质和分解酶类。由于葡萄糖的转运蛋白质和分解酶类的基础合成水平较高，所以，在葡萄糖存在时细胞将会特别浪费地诱导其他启动子以便利用各种化合物。为了避免 mRNA、酶类和分解代谢物过度的生成，通过进化已形成了一个限制这些分子合成的调控系统。

代谢物的抑制

4.20 一旦启动子被开启，是什么使细胞免于在几分钟内被 mRNA 和蛋白质所添满？

当一个启动子被诱导，细胞不会很快被 mRNA 和蛋白质所添满的一个原因是：大多数 mRNA 的**半衰期**(half - life)约为 2.5 分钟。这意味着在 mRNA 合成后 2.5 分钟，有一半的 mRNA 要被细胞内核酸内切酶降解。5 分钟后，剩余的 mRNA 的比例只有 25%；约 15 分钟，98%的原有 mRNA 被降解。当然，这 15 分钟内，还会有更多的 mRNA 被合成。因此，mRNA 是在积聚，但速度不会很快(假如 mRNA 是稳定的，积聚是较快的)。另一方面，由于蛋白质通常比 mRNA 更为稳定，它们的积聚要更快一些。细胞不会很快被 mRNA 和蛋白质所添满的另一个原因是：mRNA 和蛋白质的过度合成将会使能量耗竭。某些分子(如磷酸烯醇式丙酮酸)的大量消耗将引起许多与分解代谢有关的启动子被抑制。这个调控系统是在阻抑物作用的基础之上的；它被称为分**解代谢物抑制**(catabolite repression)。当一个细胞代谢速度很快的时候，分解代谢物抑制就会停止大量分解代谢启动子的表达。分解代谢物抑制与一个小的效应物分子(cAMP)(图 4 - 4b)和与其结合的蛋白质(cAMP 受体蛋白质，即 CRP)有关。

4.21 cAMP(环磷酸腺苷)和 CRP(cAMP 受体蛋白质)如何影响诸如乳糖操纵子那样的分解代谢操纵子的调节？

乳糖操纵子的调节要比前述的稍微复杂一些。只有当一个 CRP 复合物和 cAMP 与激活物结合位点 *lacCRP*(图 4 - 3b)结合，RNA 聚合酶才能有效地与 *lacP1* 结合并启动转录。在大多数资料中，*lacCRP* 位点是作为 *lacP1* 的一部分，但在本书中这些位点是分离的(图 4 - 1)。细胞中 cAMP 水平越高，就会有更多的 cAMP 与 CRP 结合，细胞中就会存在更多的 CRP - cAMP。高浓度的 CRP - cAMP 复合物意味着它将以更大的速率与 *lacCRP* 结合。因此，RNA 聚合酶能够有效地结合并反复地启动转录。乳糖操纵子表达的最大速率不仅取决于 RNA 聚合酶与 *lacP1* 结合的效率，还取决于 CRP - cAMP 复合物与 *lacCRP* 结合的效率。

代谢率低，cAMP 水平就高。因此，将会有高水平的 CRP - cAMP 复合物来刺激转录。另一方面，代谢率高，cAMP 水平就高。这意味着将有较少的 CRP - cAMP 复合物来刺激转录(图 4 - 3c)。

4.22 高代谢率和减少的 cAMP 水平及转录之间有什么联系？

一个被称为**酶Ⅲ**(也称为酶Ⅱa)的蛋白质可以是磷酸化状态(EⅢP)或非磷酸化状态(EⅢ)。磷酸的主要来源是**磷酸烯醇式丙酮酸**(phosphoenolpyruvate，PEP)和**乙酰磷酸**(acetylphosphate，AP)。EⅢP(磷酸化状态的酶Ⅲ)是**腺苷酸环化酶**活化所必需的；腺苷酸环化酶是催化由 ATP 合成 cAMP 的一种与膜结合的酶(图 4 - 5)。若 EⅢ形式占优，腺苷酸环化酶失活且没有 cAMP 被生成。EⅢ直接影响细胞的成分。而且，它能激活磷酸酶(催化降解 cAMP 的酶)；它可为 cAMP 打开膜孔，由此促进细胞内 cAMP 快速流失；它抑制乳糖通透酶，由此延缓诱导物的摄入。

当乳糖 mRNA 和酶类的合成代谢增加，用于磷酸化酶Ⅲ的磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)和乙酰磷酸(AP)减少，这是由于这些化合物要被代谢来为制造核苷酸和氨基酸提供能量。PEP 和

AP的耗竭导致非磷酸化的酶Ⅲ增加。非磷酸化的酶Ⅲ引起cAMP浓度的快速减少。当cAMP水平低下，大多数的CRP上没有cAMP，因此它不能与*lacCRP*结合。当CRP-cAMP不与激活物结合位点结合，RNA聚合就不能有效地与*lacP1*结合或启动转录。其结果是：没有新的mRNA被合成，与乳糖分解代谢有关的酶类没有显著的增加。最初合成的mRNA继续被翻译，但是，由于它被迅速地消化，新蛋白质合成的总量快速下降。

4.23 细胞的分裂和生长如何影响诸如乳糖操纵子那样的分解操纵子的表达？

当细胞生长和分裂的时候，每个细胞内的酶浓度就会减少。例如，如果在乳糖操纵子的转录已被高代谢率所阻断后细胞生长和分裂，在20分钟内细胞内积聚的乳糖mRNA就会减少其最高水平的1%。由于生长和分裂的稀释作用，较稳定的酶类在数量上减少50%以上。最终，乳糖操纵子的表达减少至一个点，在此点上PEP和AP池开始增加。当PEP和AP池开始增加，越来越多的酶Ⅲ被磷酸化，并且cAMP的浓度再一次的增加。EⅢP抑制降解cAMP的磷酸酶，关闭cAMP孔道，激活腺苷酸环化酶并合成cAMP。细胞生理学上的这些变化导致新一轮的转录。如果环境中的营养素浓度没有激烈的变化，分解代谢物的浓度、cAMP的浓度及转录的起始等就会达到一个稳态平衡。

4.24 什么是二次生长？

在利用其他糖之前而彻底分解一个糖所形成的生长动力学称为**双峰生长**(diauxic growth)。当一个细胞在含有两种糖的化合物(如葡萄糖和乳糖)介质中生长的时候，这些糖并不是同时被利用。葡萄糖首先被利用，在葡萄糖被用完之前，很少或没有乳糖被分解。葡萄糖的分解代谢涉及一个最初的延迟期，一个指数期和一个停滞期。紧随葡萄糖分解代谢停滞期之后的乳糖的分解代谢促进新生长重新开始。整个群体进入另一个延迟期，第二个指数期，以及当所有乳糖都被消化完后的一个最后的停滞期。

4.25 什么是分解代谢物抑制？它如何成为二次生长的原因？

分解代谢物抑制(catabolite repression)是由葡萄糖和其他的糖类(甘露糖、果糖、*N*-乙酰葡萄糖胺和β-葡萄糖苷)对操纵子的抑制；这些糖类是通过磷酸转移酶系统而被转运进入细胞的。**磷酸转移酶系统**(phosphotransferase system)是一个重要的运输系统；许多细菌利用该系统转运糖类并在细胞内将其浓缩。磷酸转移酶系统的标志性特征是它由磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)的水解来提供能量，并使被转运的糖类磷酸化。人们曾经认为，葡萄糖代谢的产物抑制敏感的操纵子，因此命名为**分解代谢物抑制**(catabolite repression)。现在已经明确，分解代谢物并不是作为关闭操纵子的效应物在起作用。操纵子被关闭是通过抑制通透酶(它可运输诱导物)和或通过使环磷酸腺苷受体(CRP)失活来实现的。当cAMP的浓度因溢出增加而减少时，CRP就失去活性。分解代谢物抑制是在含有葡萄糖和乳糖的肉汤中二次生长的原因。快速的葡萄糖转运和合成代谢间接地抑制乳糖通透酶和间接减少细胞内cAMP的浓度。因此，乳糖很少或不能进入细胞，即使进入细胞也由于CRP已失活而不能诱导操纵子。总之，像乳糖操纵子那样的操纵子在葡萄糖存在的情况下不能被开启。

4.26 葡萄糖如何间接抑制乳糖通透酶和降低细胞内cAMP的浓度？

在许多有机体中，葡萄糖是通过磷酸转移酶系统被转运的(图4-5a)。在这个系统中，酶Ⅱ与葡萄糖结合并使其容易通过细胞膜。转运的能量是通过酶Ⅰ催化磷酸烯醇式丙酮酸的水解来提供的。PEP的水解导致一个磷酸基团与酶Ⅰ结合。酶Ⅰ把这个磷酸给予一个称为**HPr的热稳定蛋白质**(heat-stable protein)。然后，HPr将这个磷酸交给酶Ⅲ，而酶Ⅲ又把这个磷酸传给葡萄糖。当环境中存在葡萄糖并被迅速转运进入细胞，大多数的酶Ⅲ是非磷酸化的，这是由于它迅速地把磷酸给予了涌入的葡萄糖(图4-5a)。

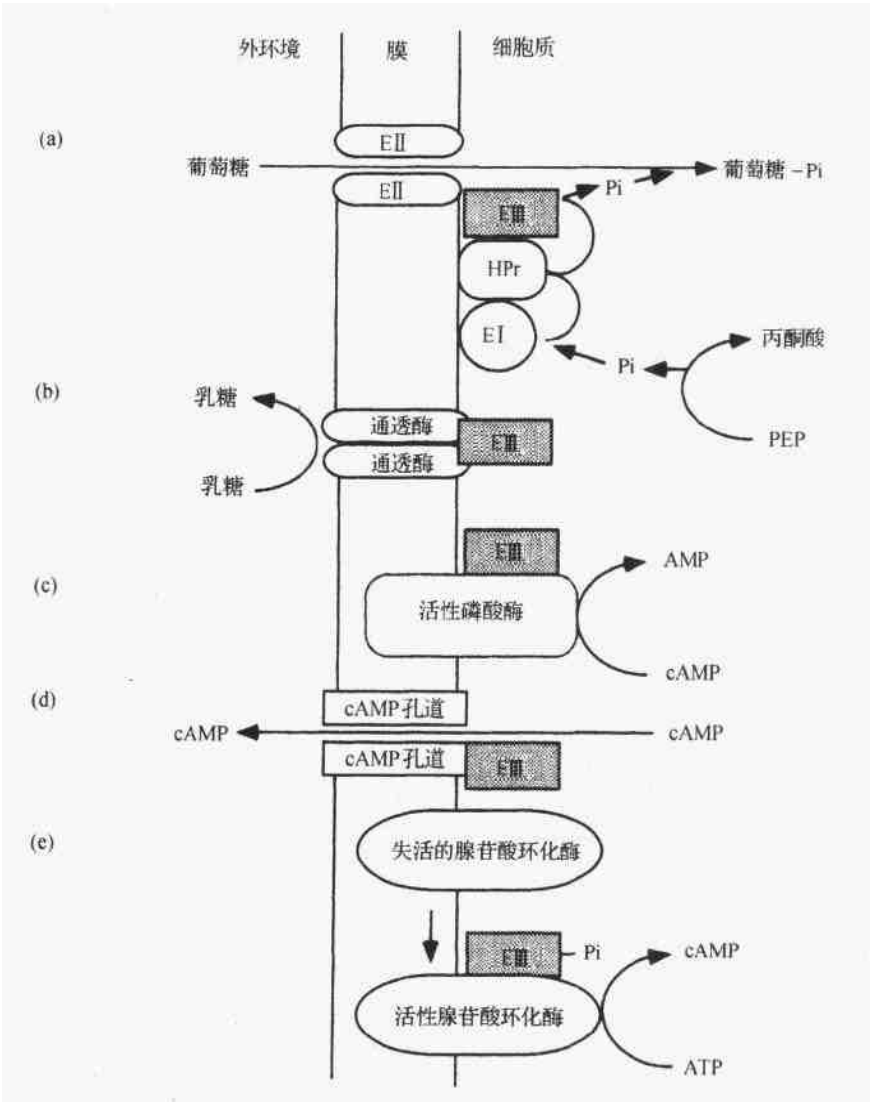


图 4－5　通过葡萄糖进行的分解代谢物抑制。(a)葡萄糖的运输把无机磷(Pi)从酶Ⅲ(EⅢ)上转移。非磷酸化的形式 EⅢ 调节大量的运输系统和酶类。(b)EⅢ 抑制乳糖透过酶。(c)EⅢ激活磷酸酶。(d)EⅢ打开 cAMP 孔道。(e)EⅢ 对腺苷酸环化酶没有作用，但是，EⅢ的磷酸化形式(EⅢP)激活腺苷酸环化酶。

在其非磷酸化形式，酶Ⅲ抑制(图 4－5c)乳糖通透酶，阻止乳糖的吸收，并激活磷酸酶的活性(图 4－5c)；磷酸酶可将 cAMP 转化为 AMP。因此，诱导物的吸收被阻断，CRP 失去活性。此外，酶Ⅲ刺激孔道打开，使得 cAMP 迅速离开细胞(图 4－5d)。这也促进 CRP 的失活。最后，非磷酸化酶Ⅲ不激活腺苷酸环化酶(图 4－5e)。不能形成新的 cAMP 和保持高水平的 cAMP 也导致 CRP 的失活。很明显，快速葡萄糖运输和合成代谢(耗尽 PEP)，可通过许多机制关闭乳糖操纵子。

葡萄糖被耗尽后，酶Ⅲ维持磷酸化状态。磷酸化的酶Ⅲ不能抑制乳糖的吸收，不能刺激 cAMP 离开细胞，不能促进 cAMP 水解。因此，乳糖可被转运进入细胞并且 cAMP 水平升高。在葡萄糖转运和合成代谢不存在的情况下，cAMP 孔道关闭，腺苷酸环化酶被激活合成 cAMP，并且，cAMP 磷酸化酶不再被活化。

虽然葡萄糖可引起最严重的分解代谢物抑制，但是，其他的糖类(如乳糖、核糖、乙酸、琥珀酸、甘油和乳酸)也可在不同程度上促进分解代谢物抑制。这种分解代谢物抑制依赖于有机体以何样的速度生长。如果有机体生长较慢(合成低下)，将有最小的分解代谢物抑制；如果生长较快，将有最大限度的分解代谢物抑制。可用这样的假设来解释：生长缓慢的有机体并不是很

快地使用所有的 PEP 和乙酰磷酸(AP)来构建细胞物质，而把它们的绝大多数用于对酶Ⅲ(通过 EⅠ和 HPr)进行磷酸化。磷酸化的酶Ⅲ促进葡萄糖的运输和刺激 cAMP 的合成，它依次充分地刺激操纵子。比较来看，快速分解代谢和细胞生长耗尽 PEP 和 AP，致使酶Ⅲ保持其非磷酸化状态。这将关闭许多其活性依赖于 cAMP 的分解代谢操纵子。已有报道称：一些与营养素分解代谢无关的操纵子对由葡萄糖所致的分解代谢物抑制较为敏感。例如，许多编码鞭毛蛋白质和菌毛运动的蛋白质的操纵子受分解代谢物抑制的影响。目前，还不清楚这些操纵子的分解代谢物抑制机制与那些已知的分解代谢操纵子是否相似。

乳糖系统中的突变以及它们如何影响基因表达

4.27　什么是负调控诱导操纵子?

乳糖操纵子可被 *lacI* 所编码的一个特殊的调节蛋白质所抑制。这个调节蛋白质不影响任何其他的操纵子(除了可能影响它自己的操纵子)。当一个调节蛋白质是一个操纵子所特异的并抑制该操纵子，该操纵子称为是被**负调控**(negatively controlled)的。当一个操纵子可通过加入诱导物或效应物被开启，这个操纵子称为是**可诱导**(inducible)的。半乳糖和乳糖操纵子和 SOS 调节子(见问题 4.5)是负调控诱导系统的示例。

4.28　调控位点中的突变如何影响乳糖操纵子?

在乳糖操纵子中，在 *lacO* 已发现大量的点突变；这些突变改变了阻抑物的结合。这些操纵基因突变影响的是一个组成操纵子(即该基因在所有时间都被表达，甚至在不存在诱导物的情况下也被表达)。由于操纵基因突变构成操纵子的组成性，它们被记为 $lacO^c$。一般来讲，携带操纵基因组成突变的细胞中酶的水平是存在于被诱导的野生型细胞中的 100%。

lacCRP 位点中的突变已被分离；它减少操纵子表达至诱导的野生型的 2%～8%。这些突变减少 CRP 的结合。

LacP1 位点中的突变已被发现；它减少操纵子表达至诱导的野生型的 7%。这些突变严重地减少 RNA 聚合酶与 *lacP1* 的结合。把这些突变移入缺少 CRP(*crp*⁻)、cAMP 受体蛋白质和腺苷酸环化酶(cyc^-)的细菌中，可通过分析酶水平来相互鉴别 *LacCRP* 和 *lacP1* 突变。已发现：$(lacCRP^-)crp^-cyc^-$ 突变在诱导的野生型的 2%～8%的水平上继续表达乳糖操纵子。另一方面，$(lacP1^-)crp^-cyc^-$ 突变在诱导的野生型的 1%的水平上继续表达乳糖操纵子。这些突变体中，无效的 RNA 聚合酶结合(因为 $lacP1^-$ 突变)将变得更为无效，这是由于 CRP-cAMP 复合物并不能用于转录的起始。

另一类 *lacP1* 突变已被发现；它使得操纵子在接近诱导的野生型的水平上被表达。一个回复体，UV5，产生几乎正常水平的 β-半乳糖苷酶并且不依赖于 CAP 和 cAMP，

4.29　结构基因中的突变如何影响乳糖操纵子?

lacI 基因中的突变删除或改变该基因，导致生成的蛋白质不能与 *lacO* 结合，这种突变以 $lacI^-$ 符号表示。*lacI*⁻ 突变体具有组成乳糖操纵子；也就是说，乳糖操纵子不论是否存在诱导物总是被开启的。因此，$lacI^-$ 突变体和 $lacO^c$ 突变体具有相同的表型，一个组成乳糖操纵子。

通常，$lacI^-$ 等位基因相对于 $lacI^+$(野生型)等位基因来讲是隐性的。例如，在部分二倍体细胞中为 $lacI^-/lacI^+$，乳糖操纵子的这两个等位基因被由 $lacI^+$ 产生的阻抑物所关闭，并且只有在诱导物存在的情况下才能表达。某些 *lacI* 突变(符号为 $lacI^{-d}$)，相对于 $lacI^+$ 等位基因来讲是显性的。在部分二倍体细胞中为 $lacI^{-d}/lacI^+$，乳糖操纵子的这两个等位基因可被表达，甚至在诱导物不存在的情况下也能表达。由 $lacI^{-d}$ 形成的缺陷型亚单位与 $lacI^-$ 编码的正常的亚单位混合形成的阻抑物不能与操纵基因有效的结合。请注意，乳糖阻抑物是由 4 个相同的亚单位构成。一个 $lacI^{-d}$ 亚单位破坏阻抑物的正常构象。如果缺陷和正常亚单位以等量产生，每 16 个阻抑物中只有一个是正常的。如果 d 为缺陷型亚单位频度，r 为野生型

亚单位频度，d + r = 1，d = r，那么$(r + d)^4$展开式为$r^4 + 4r^3d + 6r^2d^2 + 4rd^3 + d^4$，这证明：只有 1/16 阻抑物分子($r^4$)将被活化。1/16 由系数决定。16 个可能性(1+4+6+4+1)中的r^4前边的系数为 1。

lacI 基因的另一个突变体等位基因修饰阻抑物亚单位使它们不能与诱导物结合。因此，阻抑物不能通过效应物而将其从操纵基因移走。不受效应物影响的阻抑物被称为**超级阻抑物**(super-repressor)。该等位基因的符号是 ***lacI^s***。

虽然 $lacI^s$ 对于 $lacI^+/lacI^-$ 是显性的，但对 $lacO^c$ 是隐性的。$lacI^-/lacI^s$细胞即使有诱导物存在也不能表达乳糖操纵子。另一方面，$lacO^c/lacI^s$ 细胞由于超级阻抑物不能与 $lacO^c$ 结合可以恒定地表达。

破坏β-半乳糖苷酶、通透酶和转乙酰酶的突变分别以符号 $lacZ^-$、$lacY^-$和 *lacA* 表示。某些 *lacZ* 突变(符号为 $lacZ^{-s}$)减弱这三个酶的活性。在 *lacZ* 开始部分附近的这些突变是无义突变。在转录过程中，与无义突变相应的 mRNA 序列不受核糖体保护。在蛋白质合成之前，外切核酸酶降解不受保护的 mRNA 直至通透酶和转乙酰酶的起始密码子位置。

阿拉伯糖系统

4.30 存在正调控诱导操纵子吗?

当一个调节蛋白质对于一个操纵子是特异的并可激活该操纵子，这个操纵子被认为是受**正调控**(positively controlled)的。若一个操纵子通过添加诱导物或效应物而开启，该操纵子被认为是**可诱导**(inducible)的。与糖的分解代谢有关的许多操纵子已被证明是正调控诱导操纵子；例如，与阿拉伯糖、麦芽糖和鼠李糖分解代谢有关的操纵子。

4.31 正调控诱导操纵子如何工作?

把 L-阿拉伯糖转运进入细胞，它分解代谢需要四个操纵子：*araE*、*araFGH*、*araC* 和 *araBAD*。在 ara 后面的每个大写字母表示编码不同多肽链的基因。操纵子 *araE* 和 *araFGH* 与 L-阿拉伯糖结合并转运进入细胞有关。*araE* 基因编码的蛋白质与 L-阿拉伯糖的低亲和转运有关，而 *araFGH* 基因编码的蛋白质与 L-阿拉伯糖的高亲和转运有关。*AraBAD* 和 *araC* 操纵子分别编码与 L-阿拉伯糖的分解代谢有关的酶和一个必要的调节蛋白质。操纵子 *araE*、*araFGH* 和 *araBAD* 构成了一个在调节操纵子 *araC* 控制下的调节子。此外，*araC* 操纵子也进行自身调节。L-阿拉伯糖操纵子(*araBAD*)是发现的被一个调节蛋白质正调控的第一个操纵子(图 4-6)。由于这个操纵子的调节作用已了解得很清楚了，所以，对 L-阿拉伯糖操纵子进行研究可为原核生物的基因调节提供进一步的信息。L-阿拉伯糖操纵子(*araBAD*)由三个与 L-阿拉伯糖转换为 D-核酮糖-5-磷酸有关的结构基因构成。*araB* 编码一个激酶，*araA* 编码一个异构酶，*araD* 编码一个差向异构酶。异构酶把 L-阿拉伯糖转换为 L-核酮糖。激酶把核酮糖磷酸化，把它转换成 L-核酮糖-5-磷酸。然后，差向异构酶催化 L-核酮糖-5-磷酸转化成 D-木酮糖-5-磷酸。基因转录的顺序是 BAD。

调节 *araBAD* 操纵子的操纵子由单个结构基因(*araC*)构成，它位于 *araBAD* 附近。由 *araC* 编码的调节蛋白质以二聚体形式与许多调控位点($araI_2$、$araI_1$、$araO_1$ 和 $araO_2$)结合(图 4-6)。然而，由于与多位点结合的二聚体相互作用，调节蛋白质常以四聚体的形式存在。调节蛋白质的一个重要特征是它能作为阻抑物或激活物行使其功能。在 L-阿拉伯糖不存在的情况下，调节蛋白质作为阻抑物起作用，但是，当 L-阿拉伯糖与其结合后，它就被转化为 *araBAD*操纵子的激活物。另一方面，当激活物的浓度较高时，激活物可阻断 *araC* 操纵子的转录(图 4-6d)。对于 *araC* 和 *araBAD* 基因的大多数调控位点是在 *araC* 和 *araBAD* 之间(图 4-6a)。对于 *araBAD* 基因，有如下这些：一个启动子位点；一个起始子位点，$araI_2$；第二个起始子位点，$araI_1$；一个 CRP-cAMP 结合位点，*araCRP*；和一个操纵子位点，$araO_1$。与

$araO_1$ 重叠的是 $araP_2$，$araC$ 结构基因的启动子位点。第二个操纵基因位点，$araO_2$，位于 $araC$ 基因中的100个碱基对。

在 L-阿拉伯糖不存在的情况下，与 $araO_2$ 和 $araI_1$ 结合的阻抑物蛋白质相互联合(图4-6b)。由于RNA聚合酶不能通过 $araO_2$、$araC$ 基因的表达被抑制。$AraBAD$ 的表达需要CRP-cAMP复合物与 $araCRP$ 结合，以及把该阻抑物转变为激活物并且它与 $araO_2$ 和 $araI_1$ 结合。在激活物不存在的情况下，没有来自 P_1 的转录。同样，在 $araC$ 基因产物不存在的情况下，即使存在诱导物也没有来自 P_1 的转录。这说明：阻抑物和激活物是同一蛋白质的互变形式。$araBAD$ 操纵子可被 $araC$ 编码的蛋白质(阻抑物)负调控，但是。如果 L-阿拉伯糖存在并诱导蛋白质构象变化，$araBAD$ 操纵子可被相同的蛋白质(激活物)正调控。

4.32　araC 操纵子如何调控?

在 L-阿拉伯糖不存在情况下，$araC$ 蛋白质(阻抑物)与 $araO_2$ 和 $araI_1$ 结合，并阻断 $araC$ 和 $araO_2$ 的转录(图4-6b)。在阻断发生之前，$araC$ 约有100个核苷酸被转录。当加入 L-阿拉伯糖(图4-6c)，$araC$ 蛋白质变成激活物，该激活物与 $araO_2$ 脱离并与 $araI_2$ 结合。这导致 $araC$ 从 $araP_2$ 完整的转录，并启动从 $araP_1$ 的转录。

当激活物与 $araO_2$ 和 $araO_1$ 结合，$araC$ 短暂的去抑制被终止(图4-6d)。这种由 $araC$ 基因产物 L-阿拉伯糖复合物导致的抑制证明：$araBAD$ 操纵子的"激活物"也可作为 $araC$ 操纵子的"阻抑物"而发挥作用。

4.33　调节蛋白质和调节位点中的突变如何影响 L-阿拉伯糖操纵子的表达?

大多数突变(删除或破坏 $araC$ 基因产物)关闭 $araBAD$ 操纵子。然而，如果一个功能性的 $araC$ 基因存在的话(如部分的二倍体 $araC^-\ araBAD^+/araC^+\ araBAD^-$)，该操纵子仍是可诱导的。这表明：$araC$ 基因产物对于 $araBAD$ 操纵子的表达是必需的，而且不仅在顺式位置(在同一 DNA 分子中)起作用，还在反式位置(在不同的DNA分子中)起作用。

一些 $araC$ 中的突变直接把调节蛋白质转化为激活物。这些突变(符号为 $araC^C$)使 $araBAD$操纵子是组成型的。野生型(正常的)$araC^+$ 等位基因对于 $araC^C$ 是显性的。例如，在 L-阿拉伯糖不存在的情况下，在像 $araC^C araBAD^+/araC^+\ araBAD^-$ 那样的部分二倍体中，$araBAD$ 操纵子的表达减少15倍。对于 $araC$ 的这种显性可如此解释：野生型亚单位诱导突变体亚单位构象改变，在 L-阿拉伯糖不存在的情况下，致使它们不能与 $araI_2$ 结合。

$AraP$ 中的突变(称为 $araP^C$)，在 $araC$ 不存在的情况下，使顺式 $araBAD^+$ 操纵子组成化而不是反式。带有顺式 $araP^C$ 的 $araBAD^+$ 操纵子在缺乏CRP和腺苷酸环化酶的细胞中也可表达；然而，$araBAD^+$ 操纵子在缺乏这些的细胞中却不能充分表达。

色氨酸系统

4.34　介绍与色氨酸有关的负调控操纵子的调节作用。

色氨酸生物合成操纵子(色氨酸合成所需)已被广泛地研究，这是由于它是负调控可抑制操纵子的一个例子。请注意，一个负调控操纵子是可被调节蛋白质(如一个阻抑物)抑制的一类操纵子。一个可抑制操纵子是当效应物分子存在时被抑制的操纵子。

色氨酸生物合成操纵子(*tryptophan biosynthetic operon*)由五个结构基因构成：$trpE$、$trpD$、$trpC$、$trpB$ 和 $trpA$(编码催化分支酸向色氨酸转变的酶)(图4-7)。调控位点靠近 $trpE$，它由下列成分构成：一个启动子位点($trpP$)，一个重叠的操纵基因位点($trpO$)和一个前导区域($trpL$；它编码一个前导肽和一个RNA弱化子)。前导肽涉及弱化机制，这将在问题4.35中进行讨论。色氨酸操纵子可用符号 $trpPOLEDCBA$ 表示。

色氨酸调节操纵子(tryptophan regulatory operon)由单个的结构基因 $trpR$ 构成，该基因

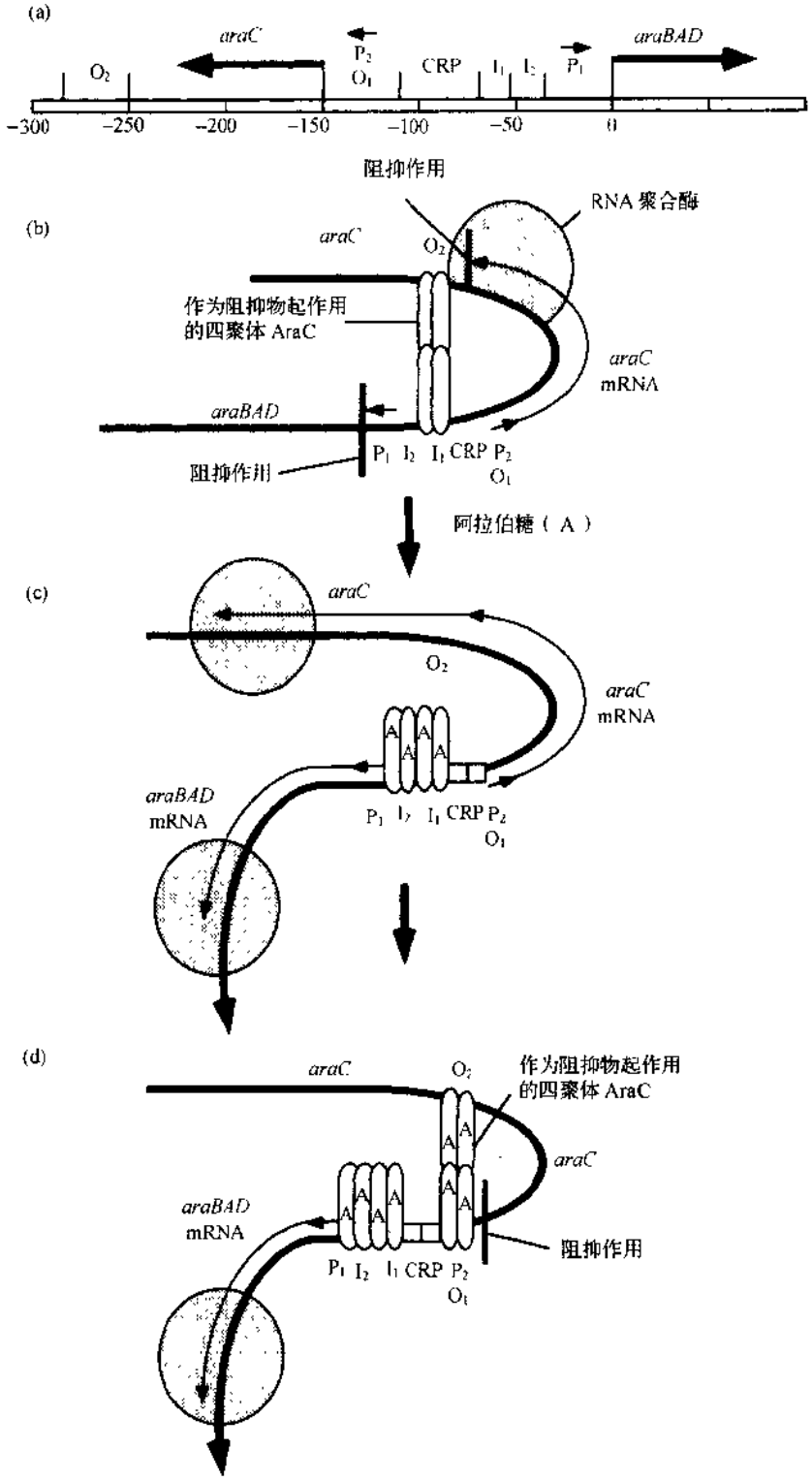


图 4-6　*L*-阿拉伯糖操纵子和调节操纵子。(a)图示阿拉伯糖操纵子中和其调节操纵子中的调控位点。P_1 是阿拉伯糖操纵子的启动子，而 P_2 是调节操纵子的启动子。I_1 和 I_2 是起始子位点，调节蛋白质在此结合并作为激活物在起作用。同样，O_1 和 O_2 是操纵基因，调节蛋白质在此结合并作为阻抑物在起作用。CRP 是 cAMP 受体蛋白质的结合位点。(b)在阿拉伯糖不存在的情况下，调节蛋白质与 I_1 和 O_2 结合，阻断调节操纵子的转录。由于没有激活物协助 RNA 聚合酶与 P_1 结合，阿拉伯糖操纵子不能被转录。(c)阿拉伯糖(A)的加入使调节蛋白质转换为一个与 I_1 和 I_2 结合的激活物。这激活了阿拉伯糖操纵子的转录。(d)当其与 O_1 和 O_2 结合时，激活物也可作为阻抑物行使功能。这个复合物阻断调节操纵子的转录。“激活物状态”的调节蛋白质也与 O_1 和 O_2 结合，但是，与这些调控位点结合后，调节蛋白质是作为阻抑物在起作用。图示的事实是：依据其结合位点的类型，相同的调节蛋白质可作为一个激活物或阻抑物在起作用。

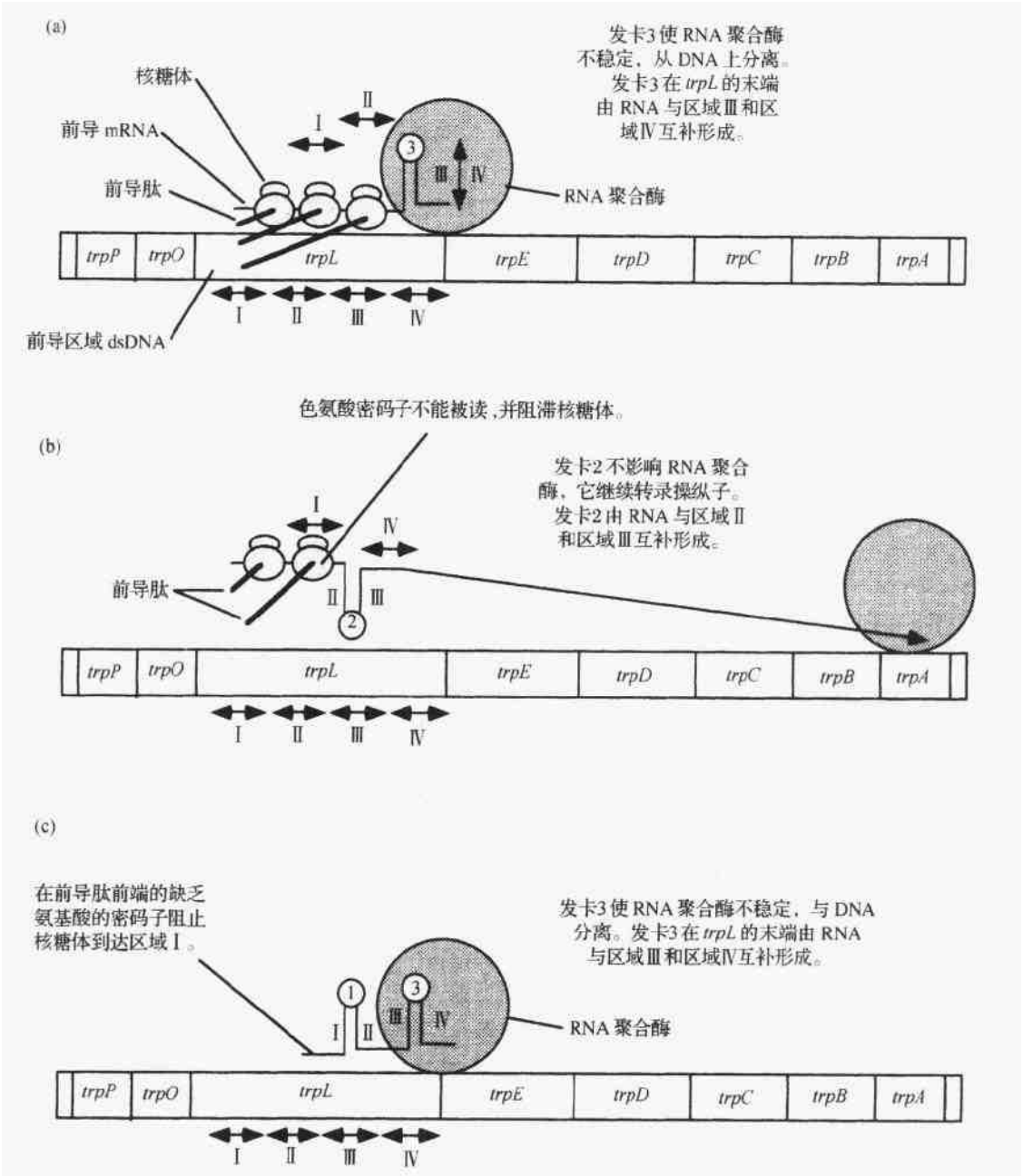


图 4-7　色氨酸操纵子及其调节作用。(a)在过量的色氨酸(和其他氨基酸)存在的情况下，前导区域被翻译。近 5′末端 mRNA 的翻译防止前导的区域Ⅰ与下游的一个前导区域之间形成氢键。重叠的核糖体也阻止区域Ⅱ与区域Ⅲ之间形成氢键。因此，只有区域Ⅲ和区域Ⅳ能相互形成氢键。这导致发卡 3 结构的形成；该结构作为转录终止信号与 RNA 聚合酶相互作用，促使聚合酶与 DNA 分离。(b)当一个细胞缺乏色氨酸(但其他氨基酸是充足的)，前导的区域Ⅰ在编码色氨酸密码子的远端是不被翻译的。然而，停滞在编码色氨酸密码子的核糖体覆盖着区域Ⅰ并阻止在区域Ⅰ和Ⅱ之间形成氢键。因此，区域Ⅱ可与区域Ⅲ形成氢键，产生一个发卡 2。由于发卡 2 不能抑制 RNA 聚合酶的移动，所以通过前导区域转录可行进。(c)当一个细胞缺乏色氨酸密码子前导肽的前几个氨基酸(如蛋氨酸、赖氨酸、丙氨酸和异亮氨酸)，发卡 1 和发卡 3 结构形成。发卡 3 阻止 RNA 聚合酶的前进并终止转录。

编码一个称为**阻抑物蛋白**(aporepressor)的非活性调节蛋白质。调节操纵子的启动子区域还没有明确。该调节操纵子是组成性的，还是受调节的，还没有确定。只知道，该调节操纵子位于距色氨酸操纵子较远的位置。因此，尽管所有细菌基因都位于相同染色体的部分，但人们还是认为色氨酸生物合成操纵子与其调节操纵子不是连锁的。

在色氨酸不存在的情况下，阻抑物蛋白(非活性调节蛋白)对色氨酸操纵子没有作用。因

此，合成该氨基酸的酶类被生成，细胞合成色氨酸。色氨酸被称为**辅阻抑物**(corepressor)，这是由于它作为一个效应物在起作用而使阻抑物蛋白转化为活性的阻抑物[称为**全阻抑物**(holorepressor)]。当色氨酸与阻抑物蛋白结合，它诱导构象改变使调节蛋白质转变为色氨酸全阻抑物。全阻抑物与 *trpO* 结合并阻断 RNA 聚合酶与 *trpP* 结合。由此关闭 *trpPOLEDCBA* 操纵子的转录。

由于 *trpPOLEDCBA* 操纵子被一个阻抑物所关闭，它是负调节的。由于向介质中加入色氨酸导致 *trpPOLEDCBA* 被抑制，该操纵子是可抑制的。

4.35 色氨酸操纵子的转录不仅被阻抑物调节也被弱化子调节。弱化子如何阻止转录?

弱化子是 mRNA **前导区域**(leader region, *trpL*)末端附近的发卡结构，它可使正在转录的 RNA 聚合酶与 DNA 分离。原核细胞中的弱化作用与真核细胞核基因中的不同，这是由于细菌的弱化作用是基于同步翻译来调节弱化子折叠为可终止转录的发卡结构。然而，额外涉及蛋白质的弱化作用过程在真核生物中并不存在(见问题 4.37)。

前导区域编码 RNA；该 RNA 在某种条件下自我折叠形成可抑制 RNA 聚合酶的发卡 3 结构(图 4-7a)。在前导区域被翻译的时候，抑制性的发卡形成。当色氨酸和前导肽中的氨基酸过量存在时，前导肽被完全合成。由于编码前导肽的 RNA 在区域Ⅰ之后存在有一个尤义密码子，所以，该前导肽终止在前导区域中部附近。然而，正在翻译区域Ⅰ的核糖体覆盖着区域Ⅱ。因此，区域Ⅱ不能阻止区域Ⅲ和区域Ⅳ形成发卡 3。发卡 3 使 RNA 聚合酶不稳定，并使其与 DNA 分离。这阻止该操纵子的其余部分转录。

若除了色氨酸以外的所有氨基酸都存在，前导区域的翻译被色氨酸密码子所抑制(图 4-7b)。基于前导 RNA 上核糖体的模式，它折叠成发卡 2 而不是发卡 3。换句话说，发卡 2 的形成阻止发卡 3 的形成。由于发卡 2 对 RNA 聚合酶的移动没有影响，*trpPOLEDCBA* 操纵子转录成 mRNA 的过程可完成。在色氨酸操纵子多顺反子 mRNA 上的每个编码区域之前，其他的核糖体可与核糖体结合位点结合，并抑制该操纵子所有五个蛋白质的翻译。

在除了色氨酸以外其他氨基酸缺乏的情况下，前导区域的翻译可被马上阻断(图 4-7c)。这导致发卡 1 的形成，它不能组阻止发卡 3 的形成。发卡 3 与 RNA 聚合酶相互作用并引起转录的终止。在前导肽开始部分存在的 4 种氨基酸(蛋氨酸、丙氨酸、赖氨酸和异亮氨酸)中的任何一个缺乏也会引起色氨酸操纵子的弱化作用，甚至在色氨酸被限制的时候也会如此。由于在许多氨基酸不存在的情况下，将有非常少的细胞蛋白质被合成，所以弱化作用对细胞是有利的。因此，通过关闭色氨酸操纵子，不去尝试合成最终难以完全合成的酶类，细胞就可有效地利用能量和营养资源。

4.36 为什么有两个调控 *trpPOLEDCBA* 操纵子的调节机制?

当色氨酸以可接受的水平存在时，关闭 *trpPOLEDCBA* 操纵子的机制是阻抑作用。然而，当色氨酸以可接受的水平存在时，阻抑作用并不能对色氨酸操纵子进行精细调节。此外，阻抑作用并不能对其他(必须由自己合成或由环境提供的)氨基酸缺乏作出反应。阻抑作用就像电灯的开关。操纵子不是彻底被关闭，就是完全开启。

即使细胞内色氨酸是充分的，阻抑物也偶尔与 *trpO* 暂时分离，RNA 聚合酶与 *trpP* 结合并启动转录(暗中合成)。如果转录被完成及开始翻译，大量的能量将浪费于合成色氨酸的酶类。然而，由于弱化子的存在，这种浪费并不发生。对色氨酸及其他氨基酸浓度作出反应，精细调节色氨酸合成速度的机制是弱化作用。当色氨酸水平降低，弱化作用较弱；当色氨酸水平增加，弱化作用较强。因此，弱化作用就像电灯的一个调光器开关。

真核生物中的转录与基因调节

与细菌中相同，在真核生物中，基因是被调节的，使它们在合适的时间及正确的水平进行

表达，以便维持细胞或促进其生长和繁殖。在多细胞有机体中的细胞不仅必须对它们的环境条件和化学物质作出反应，还必须协调一致的工作。因此，多细胞有机体的细胞运行着，常影响基因活性复杂的信号系统(见第11章)。大多数细胞产生蛋白质生长因子(称为细胞因子)、类固醇激素、和(或)神经递质；它们向细胞传递打开或关闭基因的信号。通过信号传导途径传递的信息，常起始于细胞表面终止于细胞核内的染色体。第4章的这一部分将讨论真核生物中基因表达的机制。

真核调控位点与转录

4.37 真核调控位点与细菌中的有何不同?

真核生物中调节转录的调控位点与细菌中的相似；然而，有更多的调控位点和调节蛋白质影响每个真核基因。某些调控位点距启动子位点约为数百个甚至数千个碱基对(图4-8a)。由于这些特殊的差异，至少有三类已明确的激活物：转录因子(TF)、转录激活物(TA)和辅激活物。**转录因子**(transcriptional factor)与启动子区域中的**激活物结合位点**(activator binding site)结合并刺激RNA聚合酶与启动子位点结合(图4-8b)。转录因子的生成较为恒定，这是由于有大量的基因表达依赖于这些因子。启动子、操纵基因和起始子相互较为接近，只有几百个碱基对将其分隔。位于距启动子数百甚至数千个碱基对的调控位点是**增强子**(enhancer)。增强子与**转录激活物**(transcriptional activator)以及被**诱导**(induced)的蛋白质(即只对特殊信号作出反应而被合成)结合。某些诱导的激活物(如Fos和Jun)的结合位置非常接近启动子位点，这证明：并不是所有的增强子都距启动子很远。然而，其他诱导的转录激活物(如Gal4)的结合位置距启动子有数千个碱基对。当它们在启动子附近与TF相互作用的时候，转录激活物导致DNA反向自身形成环状结构。这些增强子位点和起始子位点之间的相互作用是基础水平以上的转录所必需的(图4-8c)。辅激活物是常与TF和TA结合在一起的激活物蛋白质；它是基因表达所必需的(图4-8d)。

编码mRNA开始部分(近5′末端)区域的其他调控位点与RNA聚合酶相互作用(在某些调节蛋白质存在的情况下)并使其终止转录。mRNA的这些区域发挥作用的方式与细菌中的相似，因此将其称为弱化子。一个基因的末端或中间的RNA区域与RNA聚合酶相互作用并终止转录；该区域被称为终止子。

原有的启动子的定义由于最近在真核生物及其病毒中的一些发现而变得模糊不清。术语"启动子"或"启动子区域"过去常用来描述所有的与真核转录有关的聚集成簇的调节位点；它们并不包括增强子位点；该增强子位点位于距RNA聚合酶结合位点上游或下游数百或数千个碱基的位置。

4.38 真核生物如何使用不同的RNA聚合酶来调节转录?

有三种不同的RNA聚合酶与真核生物细胞核转录有关，而在细菌中有此功能的只有一类。只有与转录因子和转录激活物结合，这三种真核RNA聚合酶可启动转录。**RNA聚合酶Ⅰ**(RNA polymerase Ⅰ，Pol Ⅰ)转录编码5.8S、28S和18S rRNA的基因(表4.1)。该聚合酶常与在核仁组织区域的或核仁内的染色体结合。核仁组织区域是数千个编码rRNA的重复基因所构成的DNA片段。核仁组织区域只限于少数几个染色体上并在某些细胞中构成核仁。核仁是细胞核内由rDNA、rRNA和核糖体蛋白质构成的一种结构。核糖体RNA被加工，并在核仁内形成40S和60S亚单位。RNA聚合酶Ⅰ结合的启动子与那些被其他RNA聚合酶识别的启动子距离较远。然而，RNA聚合酶Ⅰ不转录5S rRNA基因。这些基因被RNA聚合酶Ⅲ所转录(见下)。

RNA聚合酶Ⅱ(RNA polymerase Ⅱ，Pol Ⅱ)从控制**前mRNA**(pre-mRNA)合成的启动子开始转录，前mRNA由编码区域和非编码区域构成。前mRNA的编码区域称为**外显子**(exon)，而非编码区域称为**内含子**(intron)。前mRNA在核内加工成为成熟mRNA；成熟

mRNA在细胞质中被翻译成蛋白质。**前 mRNA 加工**(pre-mRNA processing)涉及除去所有内含子和将外显子拼接在一起(在问题 4.46～4.50 中讨论)。

RNA 聚合酶Ⅲ(Pol Ⅲ)识别控制短 RNA 合成的启动子;这些短 RNA 包括:5S rRNA、转运 RNA(tRNA)、**核内小 RNA**(snRNA)和**信号识别颗粒 RNA**(srpRNA)。5S rRNA 是 60S 核糖体亚单位的结构成分。TRNA 阅读 mRNA 中的信息,而 snRNA 是与前 mRNA 加工有关的酶的组成部分。这些酶称为**剪接体**(spliceosome),由**核内小核糖核蛋白**(snRNP)构成,它们拼接前 mRNA 中的外显子生成 mRNA。**信号识别颗粒 RNA**(srpRNA)是信号识别颗粒的构成成分;信号识别颗粒可导引某些新合成的蛋白质到内质网。核内小核糖核蛋白和信号识别颗粒将在第 10 章中讨论。

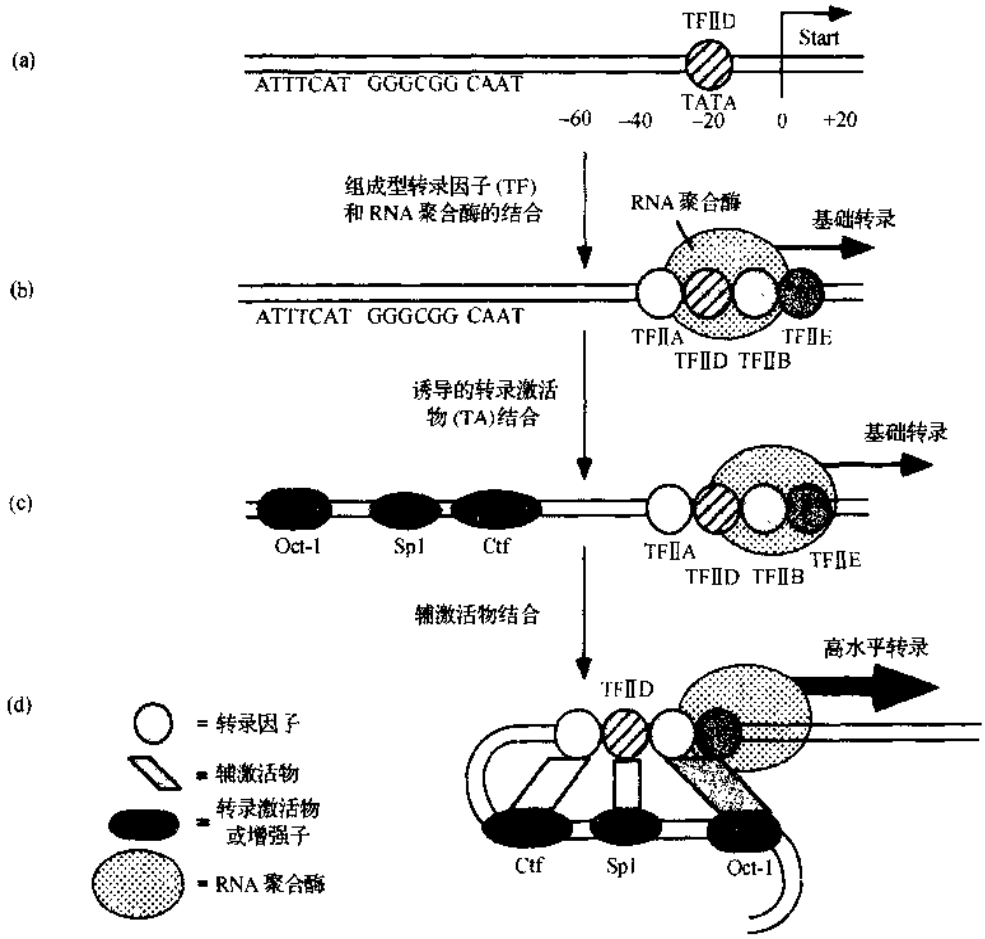


图 4-8 真核生物中转录的活化。这个图在问题 4.39 和 4.40 中予以解释。(a)一个称为转录因子(TF)的激活物与启动子区域中 TATA 框结合。在刺激一个激活物复合体形成及其与 RNA 聚合酶Ⅱ结合。(b)RNA 聚合酶Ⅱ可启动一个低水平的转录维持一个 RNA 和蛋白质基本水平。(c)下一个步骤是称为转录激活物或有时称为增强子激活物的结合;该步骤导致转录水平增高。(d)为了最大限度的转录,该启动子充分的诱导通常需要辅激活物将 DNA 转变为一个适当的构象。

表 4.1 真核 RNA 聚合酶

聚合酶	符号	结合位点	功 能*
RNA 聚合酶Ⅰ	Pol Ⅰ	不定	转录 rRNA(5.8S、28S、18S)
RNA 聚合酶Ⅱ	Pol Ⅱ	一般为 TATA 框	转录所有 mRNA
RNA 聚合酶Ⅲ	Pol Ⅲ	经常为 TATA 框	转录 5S rRNA、tRNA、snRNA 和 srpRNA

* rRNA = 核糖体 RNA,mRNA = 信使 RNA,snRNA = 核内小 RNA,tRNA = 转运 RNA,srpRNA = 信号识别颗粒 RNA。

4.39 正常情况下什么蛋白质与真核启动子结合?

RNA 聚合酶与启动子的结合依赖于称为转录因子(TF)的蛋白质,如**TFⅡD**,它结合在启动子的 TATA 框。该转录因子与细菌中的 σ 因子类似。转录因子是在启动子区域起作用的激活物,它经常直接与 RNA 聚合酶相互作用。

RNA polⅡ与其启动子位点结合需要大量的 TF。TFⅡD是与转录位点前靠近启动子约 −20～−10 碱基对的一个起始子位点结合的第一个转录因子。TFⅡD 与 TATA 框结合(图 4-8a)并被称为 TATA 框结合蛋白质(TBP)。TATA 框也被称为 **Hogness 框**。TATA 框是存在于真核启动子区域中的独特的核苷酸序列。TATA 框是距 RNA 聚合酶结合位点约-25 碱基对的一段共有序列:5′-T(C/G)*TATA*(T/A)AAA(T/C)A-3′。请注意,共有序列含有在各种各样真核生物中最常见的核苷酸序列。在 TATA 框上的 TFⅡD 位点类似于马鞍;它可识别 RNA 合成起始所需的其他转录因子。TFⅡD 的一部分与 TFⅡA 结合,而另一部分与一个组织特异性因子结合。**组织特异性因子**(tissue-specificity factor)是一个蛋白质;它只在属于某一特殊组织类型的细胞中被合成。TFⅡD 可与 TFⅡB 和 TFⅡE 相互作用。启动子和转录因子决定着哪个 RNA 聚合酶结合以及哪个基因能被转录。一个由 TFⅡA、ⅡD、ⅡB、ⅡE 和 RNA 聚合酶Ⅱ构成的复合物只能给出一个**基础水平**(basal level)的转录(图 4-8b)。转录因子、特异因子和 RNA 聚合酶的复合物在本书中被称为**前起始复合物**(preinitation complex)。

4.40 增强子如何影响转录?

一般来讲,仅由转录因子、组织特异性因子和 RNA 聚合酶构成的前起始复合物只产生基础水平的 RNA。启动子较高水平的诱导需要与距启动子位点数百个或数千个碱基对的不同的起始子位点结合的其他激活物的存在。这些远距离的起始子位点称为增强子位点(图 4-8c)。激活物蛋白质[Ctf(NF-1)]与 CAAT 框(GGCCAATCT)结合,**Spl** 与 G 框(*GGGCGG*)结合,**Spi-1** 与 PU 框(GAGGAA)结合,以及 **Oct-1** 与 AT-CAT 框(*ATTTCAT*)相互作用,这些将导致 DNA 反向自身形成环状结构;因此,激活物蛋白质或是直接或是间接地与前起始复合物相互作用。当它们如此进行,这将指示 RNA 聚合酶开始合成高水平的 RNA。这些增强子中的某些位点距启动子区域相当的近。CAAT 框通常位于转录起始碱基对前-75 碱基对的位置。

一般来讲,转录需要**辅调节子**(coregulator)[**辅激活物**(coactivator)]将转录激活物与转录因子结合(图 4-8d)。TF 和 TA 的相互作用可导致 DNA 变成能被解旋和被翻译的构象。

☞ **例 4.5**

已发现一个把 Sp1 和 TFⅡD 结合在一起的辅激活物。某些与 RNA 聚合酶结合的辅激活物具有解旋酶(DNA 解旋)的活性。

4.41 真核细胞中启动子有什么特点?

一个或多个结构基因和调节这些基因转录速度的调控位点构成启动子。大多数真核细胞启动子由大量的调控位点和一个单个结构基因构成。真核生物中结构基因的平均长度约为 10 000 个碱基对;它编码一个前 mRNA。一般来讲,大的前 mRNA 片段被剪切,各种前 mRNA小的区域被拼接在一起,形成一个或多个不同的信使 RNA(mRNA)。这些不同的 mRNA 可编码相似的蛋白质或具有不同酶活性的完全不同的蛋白质。某些真核生物病毒产生编码多蛋白的 mRNA 分子。**多蛋白**(polyprotein)可被裂解为具有各种功能的独立蛋白质。

动物和植物细胞中大量的调控位点反映了这样的事实:与细菌细胞相比,工作协调一致的

已分化细胞，必须对更多的信号作出反应，并且防止更多的影响。在细菌中，一个启动子位点（供 RNA 聚合酶结合），一个或多个操纵基因位点（供阻抑物结合），一个或两个起始子位点（供激活物结合）和一个弱化子位点（供去稳定的 RNA 聚合酶与 DNA 结合）通常有效地控制着大多数复杂的细菌操纵子。

4.42 在调控 DNA 复制和转录过程中染色体的结构起何作用？

真核生物中 DNA 复制和转录受染色体凝聚程度的影响。复制和转录可被高凝聚染色体抑制，这显然是由于 DNA 和 RNA 聚合酶以及复制和转录必需的辅助蛋白质不能与 DNA 结合。另一方面，去凝聚的 DNA 能被转录。

4.43 在真核基因调节过程中 DNA 的什么化学修饰是重要的？

DNA 甲基化（DNA methylation）的程度调节着转录。一般来讲，高甲基化的 DNA 抑制转录，而**去甲基化**（demethylated）的 DNA 可以转录。一般认为，细胞甲基化酶将甲基加在位于激活物结合位点的鸟嘌呤和腺嘌呤上。甲基在空间上阻止激活物在调控位点的结合。由于许多不同的激活物结合位点通常控制着基因的表达，调控位点的甲基化可减少基础水平的转录。

4.44 什么是基因印记？

当一个基因受其在一个亲代中历史的影响，该基因被认为可用于证明**基因印记**（gene imprinting）现象。通常，被标以印记的基因在一个性别（而不是另外一个）的生殖腺中通过甲基化而发生变化。通常，基因甲基化阻碍已发生变化的基因表达，甚至该基因已被转移至另外的宿主也是如此。

☞ **例 4.6**

如果一个基因在雌性生殖腺中而不是在雄性生殖腺中被标以印记（甲基化），遗传自雌性的基因不被表达，但是，遗传自雄性的基因可在雌性和雄性子代中均可表达。

基因印记常形成相互补充的母本和父本的基因组而不是提供双倍的产物。例如，一个来自雌性染色体也许表达基因 A 和 B 而不表达 C、D 或 E；而来自雄性的同源染色体将表达 C、D 和 E，而不表达 A 或 B。因此，从一个亲代获得两套染色体的二倍体动物，很可能以某种方式不正常的发育。甚至只在一个染色体上被印记的基因可能具有主要的影响。通常，如果某个染色体的两个拷贝来自同一个亲代，该胎儿将发育异常或死亡。

☞ **例 4.7**

含有来自其母亲（而没有来自父亲的基因）两套完整染色体的小鼠，胚胎初始发育几乎完全正常，但是，由于几乎没有胎盘组织，该胚胎死亡。与此相比较，含有来自其父亲（而没有来自母亲的基因）两套完整染色体的小鼠，胚胎基本不发育，而存在着一个发育异常大的胎盘组织。

4.45 基因印记是如何实现的？

人们认为 DNA 的甲基化是基因印记最重要的机制。科学家们追踪数代小鼠中，外源基因甲基化的方式，发现甲基化的方式依赖于亲代的性别。

☞ **例 4.8**

遗传自雌性的小鼠基因被高度地甲基化，而遗传自雄性的却较少被甲基化。遗传自雌性

的高度甲基化的基因在其儿子体内中是没有活性的，但是，在其儿子的配子中，这些基因将被去甲基化。因此，其儿子可把去甲基化的活性基因传递给孙子和孙女。这些基因在孙子和孙女体内是具有活性的。然而，发现在孙女的卵细胞中这些基因被高度地甲基化。转录因子结合位点、启动子位点、或结构基因中位点的甲基化(导致转录的过早终止)与遗传印记的形成直接相关。

已发现被凝缩的 DNA 比被解凝缩的 DNA 发生更多甲基化。因此，DNA 的结构可受其甲基化的调节，或甲基化可影响 DNA 的凝缩。

RNA 加工

4.46 在转录后，真核生物中的 RNA 经历了明显的加工过程，这如何影响 rRNA 基因的表达？

大多数的核糖体 RNA(rRNA)被很大的基因所编码；人类中的这些 rRNA 的长度多至 13 千碱基对，其 Svedberg 值为 45S(图 4－9a)。13 千碱基对的转录物在细胞核仁内由限制性内切核酸酶进行加工。限制性内切核酸酶由核内小核糖核蛋白(U3 snRNP)构成；它降解 rRNA 成间隔 RNA(非编码 RNA)。45S 前 rRNA 生成一个 18S rRNA、一个 5.8S rRNA 和一个 28S rRNA。这些 rRNA 是 40S 核糖体亚单位(18S rRNA)和 60S 核糖体亚单位(5.8S rRNA 和 28S rRNA)的结构成分。60S 核糖体亚单位还含有一个 5S rRNA，它是另外一个基因的转录物。

4.47 RNA 的加工如何影响编码蛋白质的基因表达？

编码蛋白质的转录物在细胞核内被修饰，在 5′末端加上帽子及在 3′末端加上多聚 A 的尾巴(图 4－9b)。RNA 帽子由一个被修饰的碱基——**7－甲基鸟嘌呤**(7-methylguanine)——构成。通过每次加上一个腺嘌呤核苷酸构成多聚 A 尾巴，它通常的长度为 100～250 个腺嘌呤(图 4－9c)。形成的 RNA 分子称为前 mRNA。前 mRNA 通过切除内含子和外显子的拼接转变为 mRNA(图4－9d)；最后 mRNA 被转运到细胞质并至此被翻译成为蛋白质。

通过 5′→5′键结合在前 mRNA 5′末端的磷酸基团上的 7－甲基鸟苷帽子对于新形成的前 mRNA 的完整性是必需的(图 4－1c)。该帽子对于大多数真核 mRNA 的翻译也是必需的。

所有真核 mRNA(除了那些编码组蛋白的 mRNA)必须有一个多聚 A 尾巴以便进入细胞质。一般认为，缺乏多聚 A 尾巴的 mRNA 将在细胞核内被消化。因此，认为多聚 A 尾巴可保护大多数 mRNA 免受消化。加上或不加上多聚 A 尾巴的机制有效地调节着一个 mRNA 是否可生存下来并被翻译。由于多聚 A 尾巴可加到大量的外显子上，因此，加上多聚 A 尾巴的机制也决定着哪个外显子将结束一个具体的蛋白质。

例 4.9

腺病毒晚期基因表达的前 mRNA 含有 5 个潜在的多聚 A 加入位点。加上多聚 A 尾巴的外显子是最后一个被拼接并已加工的 RNA。已查明，每个外显子具有数个拼接位点，这样就可有多至 15 个不同的蛋白质被合成。因此，决定多聚 A 尾巴在哪里加入的机制决定着基因产物的种类。

从细胞核中分离的最大的 RNA 分子包含初级转录物和部分被加工的转录物。这些 RNA 分子被称为**不均一核 RNA**(heterogeneous nuclear RNA，hnRNA)。初级转录物被称为**前 mRNA** 或**前 rRNA**。

4.48 间隔 DNA、内含子和外显子具有什么独立的功能？

在较复杂的真核生物中，如人类，基因组中约 95%以上为非编码 DNA。“较高级”的真核

生物中大多数非编码 DNA 存在于基因之间。该 DNA 称为**间隔 DNA**(spacer DNA)。间隔 DNA 存在于编码 18S rRNA、5.8S rRNA 和 28S rRNA(图 4-9a)。这些基因的转录产生一个多顺反子 45S rRNA。限制性内切核酸酶切除间隔 DNA,释放出 3 种核糖体 RNA。

在编码蛋白质的基因中,90%~95%的 DNA 也是非编码的。该 DNA 把基因分隔成称为内含子的非编码区域和称为外显子的编码区域。RNA 聚合酶通常转录一个完整的基因,形成含有内含子和外显子的 RNA 转录物。各种编码细胞蛋白质的初级转录物的内含子被去除,并且各种外显子被拼接在一起形成最后的 mRNA。内含子的切除和外显子的拼接需要一个被称为**剪接体**(splicesome)的特殊的酶复合物。剪接体在问题 4.50 中讨论。简而言之,几乎所有成熟的细胞质 mRNA 都由一个 5′帽子,拼接的外显子和一个多聚 A 尾巴构成。

4.49　从一个单个基因拼接如何形成一个以上的基因产物?

有时一个基因的转录物中并不是所有的外显子都被用于生成 mRNA。例如,假设一个基因的最初转录物由外显子 1、2、3、4、5、6 和 7 构成(图 4-9c)。把外显子 1、2、3、4、5、6 和 7 拼接在一起形成的 mRNA 所编码的蛋白质与把外显子 1、2、5 和 6 拼接在一起形成的 mRNA 所编码的蛋白质具有少许的差别(图 4-9d)。功能相似但氨基酸序列不同的蛋白质被称为**同工酶**(isozyme),并且它们通常存在于不同的组织。把不同的外显子拼接在一起的结果是:每个真核基因可编码一个以上的蛋白质。

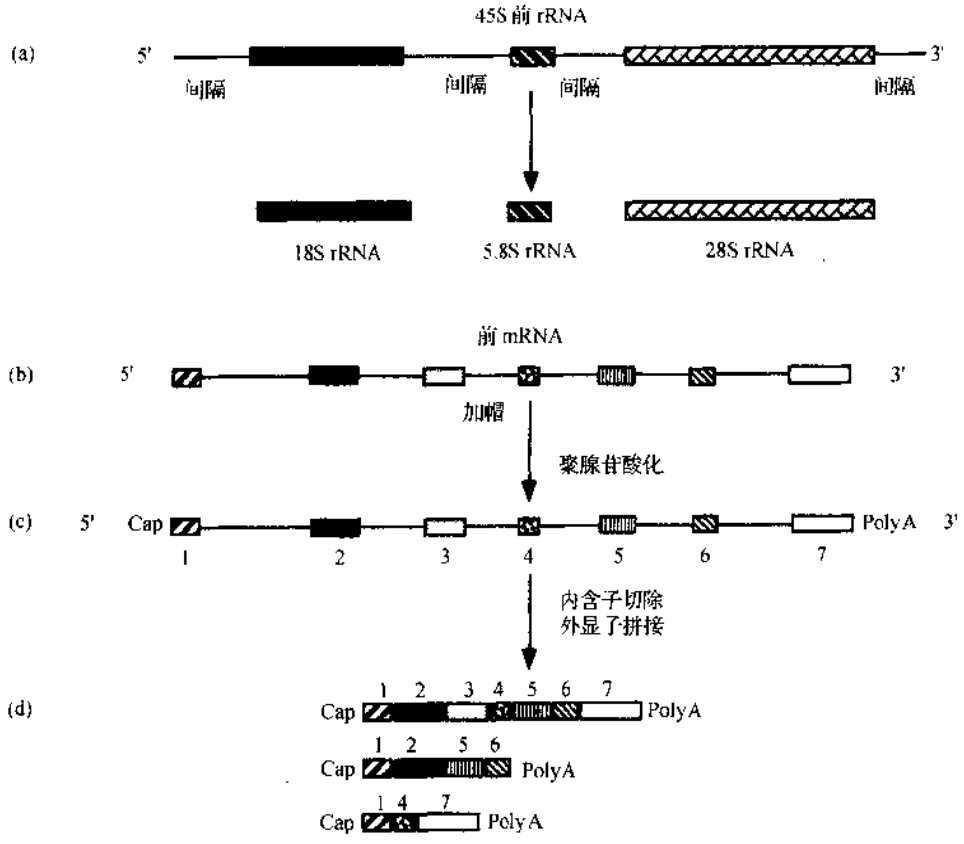


图 4-9　真核 RNA 的转录后加工。(a)通过限制性内切核酸酶切除核糖体 RNA 之间的间隔物质,45S rRNA 被加工成核糖体 RNA。通常在 rRNA 中没有内含子被切除或外显子被拼接;一个例外可见问题 14.8。(b)~(c)前 mRNA 在 5′末端加上帽子和在 3′末端有一个多聚 A 被合成。(c)~(d)剪接体切除内含子并把外显子拼接在一起(标以数字的长方形)。在外显子之间的 DNA 序列是内含子。(d)通过不同的外显子的拼接和加上不同的多聚 A 可形成许多不同的 mRNA(图中显示 3 个)。这些不同的 mRNA 可编码活性不同的蛋白质。

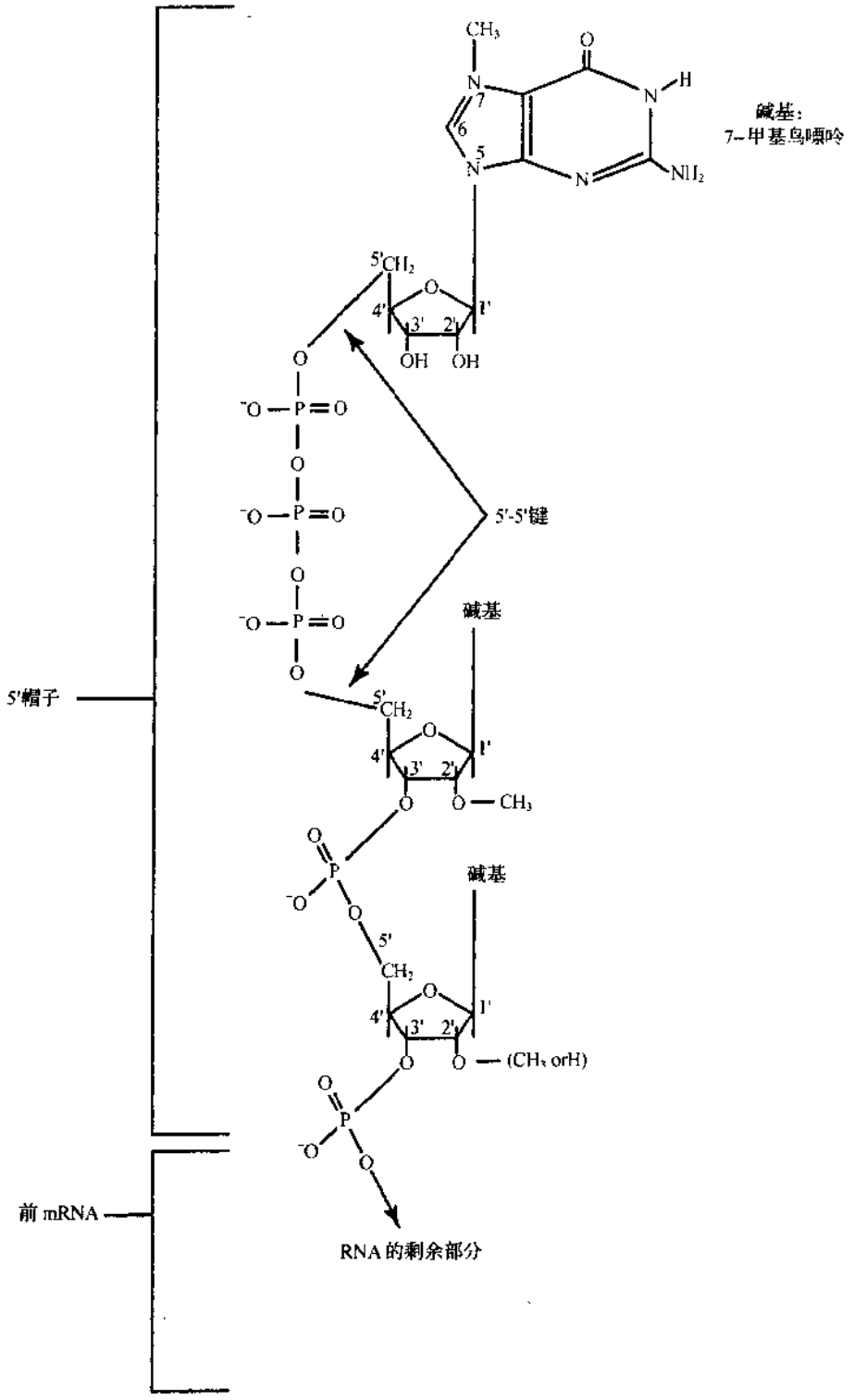


图 4-10　mRNA 5′帽子。mRNA 5′帽子含有稀有核糖核苷酸 7-甲基鸟苷(m^7G)三磷酸，它通过一个稀有的 5′→5′键结合在 5′末端。大多数核苷酸通过连接 3′→5′碳原子的键结合在一起。与 m^7G 相邻的两个核苷酸也在其 2′羟基上被甲基化。这些被修饰的核苷酸也是 5′帽子的一部分。

4.50　拼接如何发生？它是如何被调节的？

大多数拼接是在细胞核中由酶复合物(剪接体)来实施的。剪接体由 4 个不同的核内小核糖核蛋白颗粒(snRNP)构成的；它们共同作用把初级转录物中外显子的末端相互拉近(图 4-11)。SnRNP 由 6 个～10 个蛋白质和 5 个**核内小 RNA**(small nuclear RNA)(snRNA；U1、

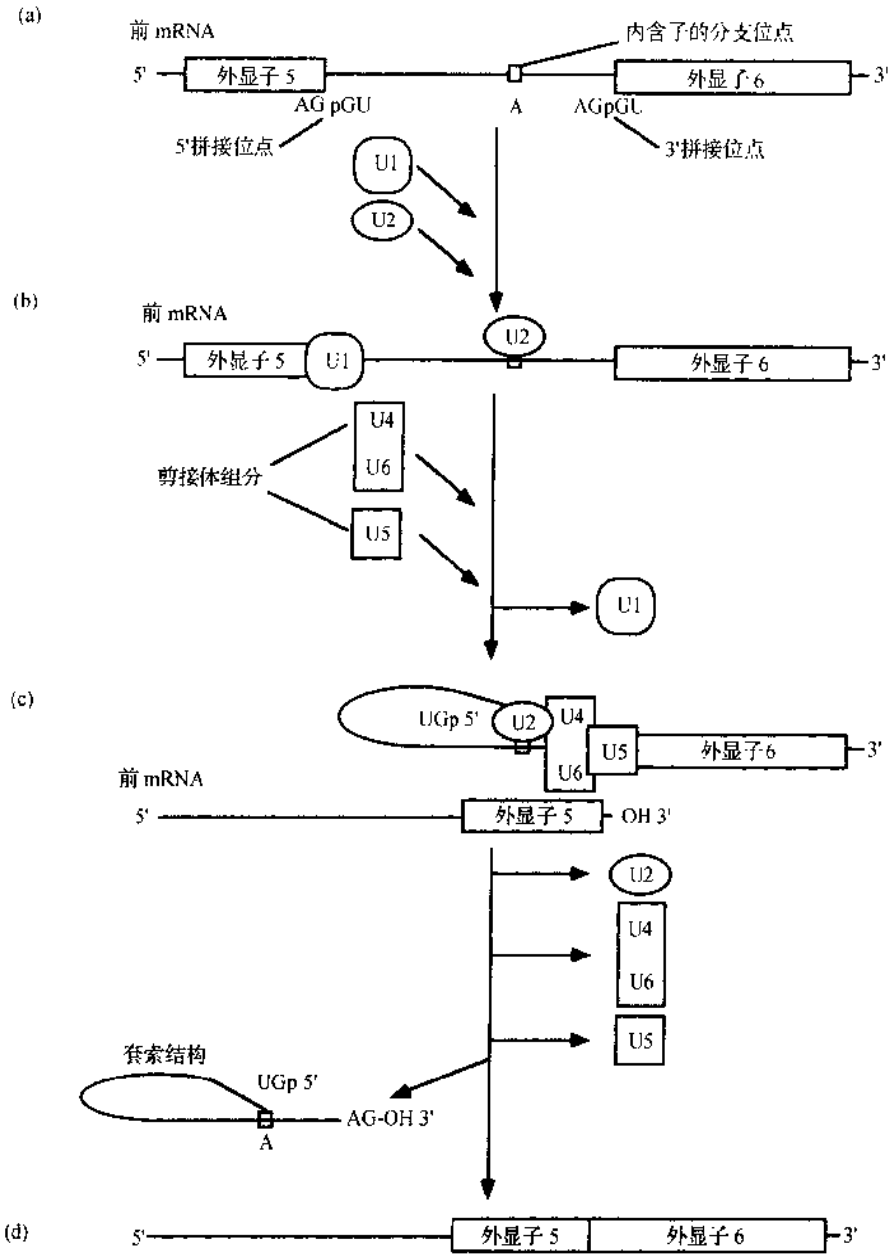


图 4－11　前 mRNA 的 RNA 拼接。(a)～(b)核内小核糖核蛋白颗粒 U1 和 U2 分别结合在 5′拼接位点和分支位点。5′拼接位点在 5′AgpGU 3′序列中磷酸的左侧，而 3′拼接位点在右侧。(b)～(c)另外的核内小核糖核蛋白颗粒 U4－U6 和 U5 与 U1 和 U2 共同形成一个剪接体。剪接体把 5′外显子与内含子分开，并把内含子的 5′末端与分支位点结合形成一个套索结构。"自由"的外显子(在该例子中为外显子 5)3′末端处于与下一个外显子(在该例子中为外显子 6)的 5′末端可发生反应的位置。(c)～(d)剪接体催化"自由"外显子(外显子 5)的 3′末端与第二个外显子(外显子 6)的 5′末端之间发生反应。剪接体解聚为单个的核糖核蛋白颗粒。现在，只由内含子物质构成的套索结构被释放。

U2、U4、U5 和 U6)中的一个或两个共同构成。U4 和 U6 存在于同一 snRNP 中。snRNP 一般以其所含的 snRNA 来命名。

U1snRNP 与 5′内含子-外显子接合处结合，U5snRNP 结合在 3′内含子-外显子接合处，而 U4－U6snRNP 结合在 U5 附近，U2 结合在将形成套索分支点的位置(图 4－11b，c)。剪接体，特别是 U1snRNP，在一个外显子(在图 4－11c 中以＃5 为例)的 3′末端剪切。U2snRNP 催化套索的形成，而 U5 催化在外显子 6 的 5′末端的剪切和外显子 5 和外显子 6 之间的拼接(图 4－11d)。

在最简单的例子中，剪接体促进两个外显子之间的一个内含子切除和两个外显子的拼接。在较复杂的例子中，剪接体可促进两个外显子之间的内含子和外显子的切除，并且把目标外显子拼接在一起。

在某些例子中，拼接也许并不需要 snRNP 或剪接体。前 mRNA 可作为自身催化剂而完成自身拼接。目前所发现的所有拼接均是接受蛋白质的负调节(抑制)，然而，对这些蛋白质所知甚少。这些蛋白质与 RNA 结合并抑制前 mRNA 的拼接能力。

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 在启动子区域 TATA 框结合的蛋白质称为(　)。 (a)辅调节子 (b)辅激活物 (c)增强子 (d)转录激活物 (e)转录因子
2. 由雌性遗传的一个基因在雄性和雌性后代中均不表达，但是，若该基因遗传自雄性，它却可在雄性和雌性后代中表达。这个例子是基因(　)。 (a)重组 (b)抑制 (c)删除 (d)印记 (e)转录
3. 当与相应的激素结合后，类固醇激素受体结合至(　)。 (a)蛋白质 (b)rRNA (c)mRNA (d)snRNA (e)DNA
4. 位于基因之间的 DNA，它不用于编码一个产物，但是，在 RNA 加工过程中它将被抛弃，它被称为(　)。 (a)内含子 DNA (b)外显子 DNA (c)间隔 DNA (d)调节 DNA (e)或者 a 或者 b
5. 位于基因之内的 DNA，它不用于编码一个产物，但是，在 RNA 加工过程中它将被抛弃，它被称为(　)。 (a)内含子 DNA (b)外显子 DNA (c)间隔 DNA (d)调节 DNA (e)或者 a 或者 b
6. 下列(　)位点距启动子数千个碱基对，并调节转录。(a)操纵基因 (b)起始子 (c)增强子 (d)弱化子 (e)上述全部
7. 基因印记的化学基础是(　)。 (a)DNA 的磷酸化 (b)DNA 的甲基化 (c)DNA 的氧化 (d)DNA 的糖基化 (e)上述均不是
8. 编码蛋白质的真核 RNA 在翻译前的修饰是通过(　)。 (a)加上 5′帽子 (b)外显子的拼接 (c)在 3′末端加上多聚 A 尾巴 (d)上述全部 (e)上述均不是
9. 剪接体的构成是由 4 个不同的(　)。 (a)信号识别颗粒(SRP) (b)信号识别颗粒受体(SRPR) (c)信号序列受体(SSR) (d)核内小核糖核蛋白颗粒(snRNP) (e)缺乏蛋白质的核内小 RNA(snRNA)
10. 由前 mRNA 切下的内含子有(　)。 特征形式。 (a)线性结构 (b)环状形式 (c)套索形状 (d)θ 结构 (e)chi 或 χ 结构
11. 蛋白质合成起始的大多数真核 mRNA 需要(　)。 (a)一个 3′多聚 A 尾巴 (b)一个 5′多聚 A 尾巴 (c)一个 3′帽子 (d)一个 5′帽子 (e)一个多聚 A 尾巴和一个帽子
12. 细菌中的结构基因平均长度为(　)个碱基对。(a)15 (b)50 (c)100 (d)500 (e)1000
13. 细菌中的调控位点平均长度为(　)个碱基对。(a)15～30 (b)50～100 (c)300～500 (d)750～1000 (e)超过 2k
14. 当大量的基因被转录为一个 mRNA，该 mRNA 被称为(　)。 (a)多聚体 (b)聚合体 (c)多顺反子 (d)多克隆 (e)多核糖体
15. 在其磷酸化形式中的酶Ⅲ(EⅢP)(　)。 (a)激活腺苷酸环化酶 (b)打开 cAMP 孔道 (c)抑制乳糖通透酶 (d)激活磷酸化酶 (e)上述全部
16. 下列(　)是 cAMP 的特征。(a)它是一个核苷酸 (b)它是由 ATP 合成的 (c)它是一个

效应物分子 (d)它与CRP结合 (e)上述全部

17. 在细菌中,下列( )不是效应物。(a)cAMP (b)*L*-阿拉伯糖 (c)异乳糖 (d)乳糖 (e)IPTG
18. 在细菌中,下列( )不是操纵子的诱导物。(a)色氨酸 (b)异乳糖 (c)IPTG (d)*L*-阿拉伯糖 (e)上述项目一个以上
19. 色氨酸生物合成操纵子为下列( )方面的例子。(a)正调控可抑制操纵子 (b)负调控可诱导操纵子 (c)正调控可诱导操纵子 (d)负调控可抑制操纵子 (e)上述均不是
20. 色氨酸调节操纵子由一个单个结构基因 *trpR* 构成,该基因编码一个无活性调节蛋白质,它被称为( )。 (a)辅抑制物 (b)全阻抑物 (c)脱阻抑物 (d)辅激活物 (e)弱化子
21. 色氨酸生物合成操纵子的辅阻抑物是一个( )。 (a)蛋白质 (b)多糖 (c)tRNA (d)色氨酸 (e)cAMP
22. ( )是色氨酸调节蛋白质的效应物。(a)蛋白质 (b)多糖 (c)tRNA (d)色氨酸 (e)cANP
23. 色氨酸生物合成操纵子的前导区域(*trpL*)编码RNA,该RNA的功能是该操纵子的( )。 (a)辅阻抑物 (b)全阻抑物 (c)脱阻抑物 (d)辅激活物 (e)弱化子
24. 色氨酸操纵子的弱化作用可发生( )。 (a)如果色氨酸和所有其他的氨基酸过量存在 (b)如果前导肽的合成没有被起始 (c)如果前导肽已被合成 (d)如果不存在蛋氨酸或*N*-甲酰蛋氨酸 (e)上述全部
25. 如果前导区域(*trpL*)和调节蛋白质(*trpR*)被删除,色氨酸生物合成操纵子将( )。 (a)被恒定地表达 (b)被最大限度弱化 (c)不被转录 (d)被辅阻抑物所抑制 (e)上述均不存在
26. 首先代谢一个糖所形成的生长动力学被称为( )。 (a)指数生长 (b)二相生长 (c)双峰生长 (d)趋化性 (e)自养作用

是非题 正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 真核生物中RNA复制的起始需要转录激活物,如Fos和Jun。
2. 信号受体蛋白质由一个RNA(srpRNA)和许多蛋白质构成。
3. 磷酸化是基因印记的一个重要机制。
4. 如果一个基因在雌性中而不在雄性中被标以"印记",该印记基因可在雄性中表达。
5. 当与其相应的激素结合,类固醇激素受体可作为转录激活物而起作用。
6. 大多数前mRNA通过加上一个5′多聚A尾巴和一个3′帽子而被修饰。
7. 前mRNA中的外显子可以许多不同的方式被拼接在一起,因此,可由一个单个基因产生许多不同mRNA。
8. 结构基因的另外专业术语是弱化子。
9. 当大量的基因被转录为一个mRNA,该mRNA被称为多聚体。
10. 分解代谢抑制减少细胞内cAMP水平并抑制乳糖通透酶。
11. EⅢ(酶Ⅲ的非磷酸化形式)不激活腺苷酸环化酶;腺苷酸环化酶催化由ATP合成cAMP的过程。
12. 存在于前导肽前端的至少4个氨基酸中的任何一个的缺乏将导致色氨酸操纵子的弱化,甚至,限制色氨酸的时候也是如此。
13. 转录激活物(TA)与距启动子区域数百个碱基对的增强子结合。
14. 辅激活物与RNA聚合酶结合并协助它们与正确的启动子区域结合。
15~46. 乳糖调节操纵子和野生型细胞的乳糖分解代谢物操纵子的符号为 $I^+P^+O^+Z^+Y^+A^+$。右上角的加号表示:该调控位点或结构基因的功能正常。右上角的减号表示:该调

控位点或结构基因有缺陷或丢失。其他的符号，如：I^{-d}，I^{-}，Z^{-m}，O^{c}，已在课文中进行了解释。带有斜线的基因型，如：$I^{-}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{-}/I^{+}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$，表示其为部分二倍体细胞。在下列表中每个问题的题号，指出是否是β-半乳糖苷酶(β-gal)和通透酶为所列的基因型中所制造。注意：在某些情况下诱导物不存在，而在另外的情况下却是存在的。如果该蛋白质被制造，以T标记；如果不被制造则以F标记。

基因型	诱导物不存在		乳糖存在	
	β-gal	通透酶	β-gal	通透酶
$I^{-}P^{+}O^{+}Z^{-}Y^{-}A^{-}$	15	16	17	18
$I^{s}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$	19	20	21	22
$I^{s}P^{-}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$	23	24	25	26
$I^{+}P^{+}O^{+}Z^{-}Y^{-}A^{+}$	27	28	29	30
$I^{+}P^{+}O^{c}Z^{+}Y^{-}A^{+}$	31	32	33	34
$I^{s}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$ $I^{+}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$	35	36	37	38
$I^{+}P^{+}O^{+}Z^{-}Y^{-}A^{-}/I^{+}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$	39	40	41	42
$I^{-}P^{+}O^{+}Z^{-m}Y^{+}A^{+}/I^{s}P^{+}O^{+}Z^{+}Y^{+}A^{+}$	43	44	45	46

47～66. L-阿拉伯糖调节操纵子和L-阿拉伯糖分解代谢物操纵子的符号为$O^{+}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{+}P^{+}B^{+}A^{+}D^{+}$。右上角的加号表示：该调控位点或结构基因的功能正常。右上角的减号表示：该调控位点或结构基因有缺陷或丢失。其他的符号，如：P^{c}，C^{r}，已在课文中进行了解释。基因型$O^{+}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{+}P^{+}B^{+}A^{+}D^{+}/O^{+}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{+}P^{+}B^{+}A^{+}D^{+}$，表示其为部分二倍体细胞。指出是否异构酶和激酶为下列的基因型中所制造。注意：在某些情况下诱导物不存在，而在另外的情况下却是存在的。如果该酶被制造，以T标记；如果不被制造则以F标记。

基因型	诱导物不存在		诱导物存在	
	异构酶	激酶	异构酶	激酶
$O^{-}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{-}P^{-}B^{+}A^{+}D^{+}$	47	48	49	50
$O^{+}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{+}P^{+}B^{-}A^{-}D^{+}$	51	52	53	54
$O^{+}C^{+}P^{+}O^{-}CRP^{-}I^{+}P^{+}B^{-}A^{-}D^{+}$	55	56	57	58
$O^{-}C^{-}P^{-}O^{+}CRP^{+}I^{+}P^{+}B^{+}A^{+}D^{+}/$ $O^{+}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{+}P^{+}B^{+}A^{+}D^{-}$	59	60	61	62
$O^{+}C^{+}P^{+}O^{+}CRP^{+}I^{-}P^{+}B^{+}A^{+}D^{+}/$ $O^{+}C^{+}P^{-}O^{c}CRP^{-}I^{-}P^{+}B^{+}A^{-}D^{+}$	63	64	65	66

匹配题　下列每个配套组中，并不是B栏中的每一个术语都可与A栏中标号的描述相配。而且一个术语可应用于一个以上的描述。

A　栏　　B　栏

1. 合成前mRNA的酶
2. 合成snRNA的酶
3. 合成45S rRNA的酶
4. 合成srpRNA的酶
5. 合成5S rRNA的酶
6. 合成tRNA的酶

A. RNA聚合酶Ⅰ
B. RNA聚合酶Ⅱ
C. RNA聚合酶Ⅲ
D. RNA聚合酶Ⅳ

A　栏　　B　栏

7. RNA聚合酶结合的DNA序列

A. 操纵基因位点

8. σ因子结合的DNA序列　　B. 启动子位点
9. 编码蛋白质的DNA序列　　C. 前导区域
10. 抑制物结合的DNA序列　　D. 结构基因
11. 激活物结合的DNA序列　　E. 上述均没有

术语　除非特殊指明，每个答案为一个词。

1. 与TATA框结合的蛋白质。（三个词）
2. 与TBP和RNA聚合酶结合的转录起始所必需的蛋白质。（两个词）
3. 距启动子数百到数千碱基对的调控位点。（一或两个词）
4. 含有编码45S rRNA基因的染色体上的一个区域。（三个词）
5. 细胞核中的一个结构（由rDNA、rRNA和蛋白质构成），在此核糖体的亚单位（40S和60S）开始装配。
6. 用于描述将转录激活物和转录因子连接的蛋白质术语。
7. RNA分子，包括初级转录物、部分加工的RNA、被抛弃的内含子和核内小RNA。（三个词）
8. 位于基因之间的DNA。（两个词）
9. 位于基因之内不被用于编码产物的DNA。（两个词）
10. 将外显子拼接在一起的酶复合物。
11. 含有核内小RNA（snRNA）U1、U2、U4、U5和U6（作为结构成分）的蛋白质复合物。（两个词）
12. 一个化合物，当其被水解时可将葡萄糖磷酸化，并使其可被磷酸转移酶系统运输。
13. 当葡萄糖被磷酸转移酶系统运输以及乳糖通透酶被抑制时的酶Ⅲ（EⅢ）的磷酸化状态。
14. 描述操纵子、启动子、弱化子和终止子的术语。（两个词）
15. 一个单元，它含有一个或多个结构基因，这些结构基因是在一个或多个调控位点控制之下，这些控制位点中的一个必须是一个启动子。
16. 葡萄糖磷酸转移酶系统的酶，它激活磷酸酶并直接将葡萄糖磷酸化。
17. 首先完全代谢一个糖所形成的生长动力学。（两个词）

答　案

选择题

1. e **2.** d **3.** e **4.** c **5.** a **6.** c **7.** b **8.** d **9.** d **10.** C **11.** d **12.** e **13.** a **14.** c **15.** a **16.** e **17.** d **18.** a **19.** d **20.** c **21.** d **22.** d **23.** e **24.** e **25.** a **26.** c

是非题

1. T **2.** T **3.** F（甲基化） **4.** F（印记的基因在任何性别中均不能表达） **5.** T **6.** F（5′帽子和3′多聚A尾巴） **7.** T **8.** F（顺反子） **9.** F（多顺反子） **10.** T **11.** T **12.** T **13.** F（TA在启动子区域中的结合位点） **14.** F（辅激活物不协助RNA聚合酶与启动子区域结合。这是转录因子的功能。辅激活物将TF和TA连接并激活基础水平以上的转录） **15.** F **16.** F **17.** T **18.** T **19.** F **20.** F **21.** F **22.** F **23.** T **24.** T **25.** T **26.** T **27.** F **28.** F **29.** F **30.** F **31.** T **32.** T **33.** T **34.** T **35.** T **36.** T **37.** T **38.** T **39.** F **40.** F **41.** F **42.** F **43.** F **44.** F **45.** F **46.** F **47.** F **48.** F **49.** T **50.** T **51.** F **52.** F **53.** F **54.** F **55.** T **56.** T **57.** T **58.** T **59.** F **60.** F **61.** T **62.** T **63.** F **64.** F **65.** F **66.** F

匹配题

1. B　**2.** C　**3.** A　**4.** C　**5.** B　**6.** C　**7.** B　**8.** B　**9.** D　**10.** A　**11.** E(一个激活物可与起始子位点,转录因子结合位点,或增强子位点结合)

术语

1. TATA结合蛋白质　**2.** 转录因子　**3.** 增强子位点的增强子　**4.** 核仁组织区域　**5.** 核仁　**6.** 辅调节子和辅激活物　**7.** 不均一核RNA(hnRNA)　**8.** 间隔DNA　**9.** 内含子DNA　**10.** 剪接体　**11.** 核糖核蛋白颗粒(RNP)　**12.** PEP(磷酸烯醇式丙酮酸)　**13.** 非磷酸化的　**14.** 调控位点　**15.** 操纵子　**16.** 酶Ⅲ　**17.** 二次生长(或双峰生长)

翻译

导　言

在前几章中，已简单介绍了转录过程(通过该过程所有的 RNA 分子被生成)。该章将讨论翻译过程；在这个翻译过程中，各种 RNA 和其他分子在蛋白质的合成过程中相互作用。在解释遗传密码之后，将首先讨论原核生物中的翻译过程，然后讨论真核生物中的翻译过程。我们认定读者对于第 2 章中涉及的核酸和蛋白质结构方面的知识已有了一定的了解。

遗传密码

5.1　在遗传密码的性质被阐明之前，已有假说认为最简单的密码将是三联体密码。这个假说的理论基础是什么？

已知每个核苷酸具有四类碱基(A、U、G、C)中的一个，并且在核糖体上合成的生物蛋白质中有 20 种氨基酸；因而，最简单的遗传密码将是核苷酸的三联体。在 DNA 中三个相邻的核苷酸一组被转录为三个互补的 RNA 核苷酸，继而，RNA 被翻译成一条多肽链中的一个氨基酸。一个单体密码(一个核苷酸对应一个氨基酸)可编码四个氨基酸。一个二联体密码(两个核苷酸对应一个氨基酸)可有 $4\times4=16$ 个组合，既可编码 16 个氨基酸。然而，一个三联体密码可有 64 个组合，远远多于需要编码的氨基酸数量(20 种)。后续的实验证明，遗传密码确实是三联体密码，而且，64 个可能的三联体密码中的 61 个可编码各种氨基酸。每个密码三联体被称为一个**密码子**(codon)。然而，由于蛋白质的合成是以 mRNA 为模板而不是以 DNA 为模板，因此，密码子表常以 mRNA 三联体以及它们所代表的相应氨基酸来列表显示(表 5.1)。在表 5.1 中每个 mRNA 密码子习惯上将 5′核苷酸写在左侧而 3′核苷酸写在右侧，这是由于蛋白质的合成起始于 mRNA 的 5′末端并且其行进的方向是 3′末端。mRNA 的 5′末端编码多肽链的自由氨基末端，而 mRNA 的 3′末端编码多肽链的自由羧基末端(见问题 2.29)。在细菌中理想状态下，翻译的速度为每秒 20～40 个氨基酸。

5.2　密码简并的意义是什么？密码简并与突变的表达有何关系？

密码是高度**简并的**(degenerate)，致使一个以上的密码子编码同一个氨基酸。蛋氨酸和色氨酸分别只被一个密码子所编码。一个 mRNA 分子的靠 5′末端的密码子 5′AUG 3′是通用的**起始密码子**(start codon)；该密码子将蛋氨酸置于所有新生真核多肽链的起始部位(氨基末端)。某些氨基酸，如：苯丙氨酸和组氨酸，各自被两个密码子所编码。异亮氨酸有三个密码子，脯氨酸有四个密码子，而丝氨酸有六个密码子。编码同一个氨基酸不同的密码子被称为**同义密码子**(synonymous)。由于密码简并现象，在一个基因中发生的许多变化(突变)并不影响该基因产物的氨基酸组成。这样的变化被称为**同义突变**(samesense mutation)或**沉默突变**(silent mutation)。在遗传密码中的大多数简并发生在密码子的第三位上(3′末端)。在 mRNA密码子与转运 RNA(tRNA)分子中的反密码子的互补碱基配对，对密码子第三位碱基的要求不如三联体另外两个位置上碱基严格。例如：丙氨酸，其 mRNA 密码子中的前两个碱基(GC)可完成该氨基酸的编码；在三联体密码子的第三位上可以是四种核苷酸中的任何一

种。如果一个密码子的前两个核苷酸是UU，而第三个碱基不论是U或是C(嘧啶碱基)均编码苯丙氨酸，而不论第三个碱基是A或是G(嘌呤碱基)均编码亮氨酸。这种现象称为**摆动**(wobble)；在多数情况下，它允许同一个tRNA识别一个以上的mRNA密码子。

5.3 非编码的三联体具有什么功能?

有三个密码子不被任何tRNA识别：UAA、UAG和UGA。它们被称为**无义密码子**(nonsense codon)或**终止密码子**(termination codon)，这是由于它们像一个句子末尾的句号那样起作用，即它们提供一些蛋白质合成应在该位点终止的信号。然后，完整的多肽链从其同源tRNA和核糖体被释放出来去执行其功能。另外61个密码子是有义密码子，它们编码相应的氨基酸。

5.4 遗传密码是通用的吗?

遗传密码(相应的mRNA密码子示于表5.1中)，开始被认为可应用于所有原核生物和真核生物的基因。早期，人们认为遗传密码是通用密码。然而，后来在某些有机体的线粒体DNA中发现了一些例外。例如，在酵母线粒体中，CUA密码代表苏氨酸而不是亮氨酸，而在哺乳动物线粒体中，AUA编码蛋氨酸而不是异亮氨酸。

表5.1 密码子(以mRNA三联体表示)

第一个字母	第二个字母 U	第二个字母 C	第二个字母 A	第二个字母 G	第三个字母
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA 无意义	UGA 无意义	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG 无意义	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

注：氨基酸的三个字母符号，名称及一个字母符号(圆括弧中)如下：ala=丙氨酸(A)，arg=精氨酸(R)，asn=天冬酰胺(N)，asp=天冬氨酸(D)，cys=半胱氨酸(C)，glu=谷氨酸(E)，gln=谷氨酰胺(Q)，gly=甘氨酸(G)，his=组氨酸(H)，ile=异亮氨酸(I)，leu=亮氨酸(L)，lys=赖氨酸(K)，met=蛋氨酸(M)，phe=苯丙氨酸(F)，pro=脯氨酸(P)，ser=丝氨酸(S)，thr=苏氨酸(T)，trp=色氨酸(W)，tyr=酪氨酸(Y)，val=缬氨酸(V)。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, 1991, by W. D. Stansfield, McGraw-Hill, Inc.)

5.5 遗传密码是如何解密的?

在20世纪60年代早期，由M. W. Nirenberg和J. H. Matthei首次对遗传密码进行了解释。他们使用了一个细菌的**无细胞系统**(cell-free system)，该系统含有所有蛋白质合成所必需的装置(tRNA、核糖体、氨基酸、ATP和GTP等等)，但不含有完整的细胞和mRNA分子。使用**聚核苷酸磷酸化酶**(polynucleotide phosphorylase)(该酶可随机地将核糖核苷酸单体连接在一起，并且不需要模板)，他们可制造人工mRNA分子。首先他们合成了只含有一类核糖

核苷酸的**同聚体**(homopolymer)。例如,将只由尿嘧啶单体构成的人工 mRNA(聚 U)加到该无细胞系统,结果产生了不同长度的全部由苯丙氨酸构成的多肽链。这提示 U 的密码某些序列编码该氨基酸;后来证明它是三联体密码子 UUU。同样,人工同聚体的聚 C 编码脯氨酸,聚 A 编码赖氨酸,而聚 G 编码甘氨酸。

5.6 大多数的遗传密码是如何解密的?

在另外的实验室中,H. G. Khorana 开始合成由交替的核糖核苷酸(…ACACACACAC…)构成 mRNA 杂聚体,并发现它们编码由苏氨酸和组氨酸残基交替构成多肽链。由于在无细胞系统的人工 mRNA 上的蛋白质合成不能识别在哪里开始翻译,因此,就不能知道 ACA 或 CAC 密码子是编码哪个氨基酸的;而且,与在天然细菌 mRNA(拥有特异的核糖体结合位点)相比较,在人工 mRNA 上的翻译进行得非常慢。为了解决这个问题,由重复序列 AAC(…AACAACAACAAC…)构成的 mRNA 被合成并被引入无细胞系统。结果形成三类同聚体多肽链:全为天冬酰胺、全为苏氨酸和全为谷氨酰胺的多肽链。这些 mRNA 可用三种可能的**阅读框**(reading frame)AAC、ACA 和 CAA 中的任何一种来阅读。在由交替的核苷酸 A 和 C 构成的 mRNA(…ACACAC…)与由重复 AAC 三联体构成的 mRNA(…AACAACAAC…)之间共同的密码子只有 ACA,并且,在它们多肽产物中共有的氨基酸仅为苏氨酸,因此,苏氨酸的密码子就应该是 ACA。通过这种分析方法可把大多数的遗传密码解开。

5.7 其他的遗传密码是如何解开的?

其他未明密码子是通过核糖体结合实验而被解开。当时已发现:所有的人工 RNA 三联体(除了那些终止密码子序列)都可与其各自的 tRNA-氨基酸复合物中的反密码子区域形成配对;然后,这些复合物与核糖体结合。有 20 个不同的系统被分析。每个系统含有一个具有放射活性的不同的氨基酸;而其他 19 种氨基酸未被标记。当这些复合物被倾倒在硝酸纤维素膜上,只有核糖体(其结合或不结合 tRNA)与滤膜吸附;所有的自由 tRNA(结合或不结合其同源氨基酸)、自由的人工 mRNA 三核苷酸和自由的氨基酸均通过这个滤膜。产生了放射活性滤膜的那个系统可以显示出:哪个氨基酸可被实验中所使用的 mRNA 三联体来编码。

原核生物中的翻译

在讨论翻译过程之前,我们必须了解几个事实。核糖体含有两个 tRNA 分子结合的位点:**氨酰基位**(aminoacyl site,A 位),再此每个 tRNA 分子先与之结合;**肽基位**(peptidyl site,P 位),在此有一个带有正在生长多肽链的 tRNA 分子。细菌核糖体具有两个主要的亚单位:一个可供 mRNA 和 tRNA 结合的 30S 亚单位,以及一个也可与 tRNA 结合的 50S 亚单位。每个 tRNA 分子可在一个酶的作用下加上**负载**(loaded),即该酶可使一个特异的氨基酸与其相应的 tRNA 结合。每个 tRNA 分子具有一个含有核糖核苷酸三联体(被称为反密码子)的环状结构(见问题 2.60),该反密码子可与 mRNA 中相应的三联体密码子形成碱基配对。

5.8 在原核生物和真核生物中翻译过程有三个主要的阶段:起始、延伸和终止。在细菌中翻译的起始阶段发生了什么?

原核生物的翻译是在 mRNA 蛋氨酸密码子 5′- AUG - 3′开始的,并有一些**起始因子**(蛋白质)的协助(图 5 - 1)。负载了氨基酸即 *N*-甲酰蛋氨酸的 tRNA($tRNA^{fMet}$)与 30S - mRNA 复合物结合。该 tRNA 的反密码子 3′- UAC - 5′与 mRNA 中的互补密码子 5′- AUG - 3′配对(以反平行方式;见问题 2.25)。接下来,一个 50S 核糖体亚单位与 30S-mRNA-$tRNA^{fMet}$ 结合形成一个完整的 70S 的**起始复合物**(initiation complex)。该 $tRNA^{fMet}$ 最后进入核糖体的 P 位。这就完成了翻译的起始阶段。核糖体就像一个钓钩在翻译过程中维持着所有反应物的适当排列。

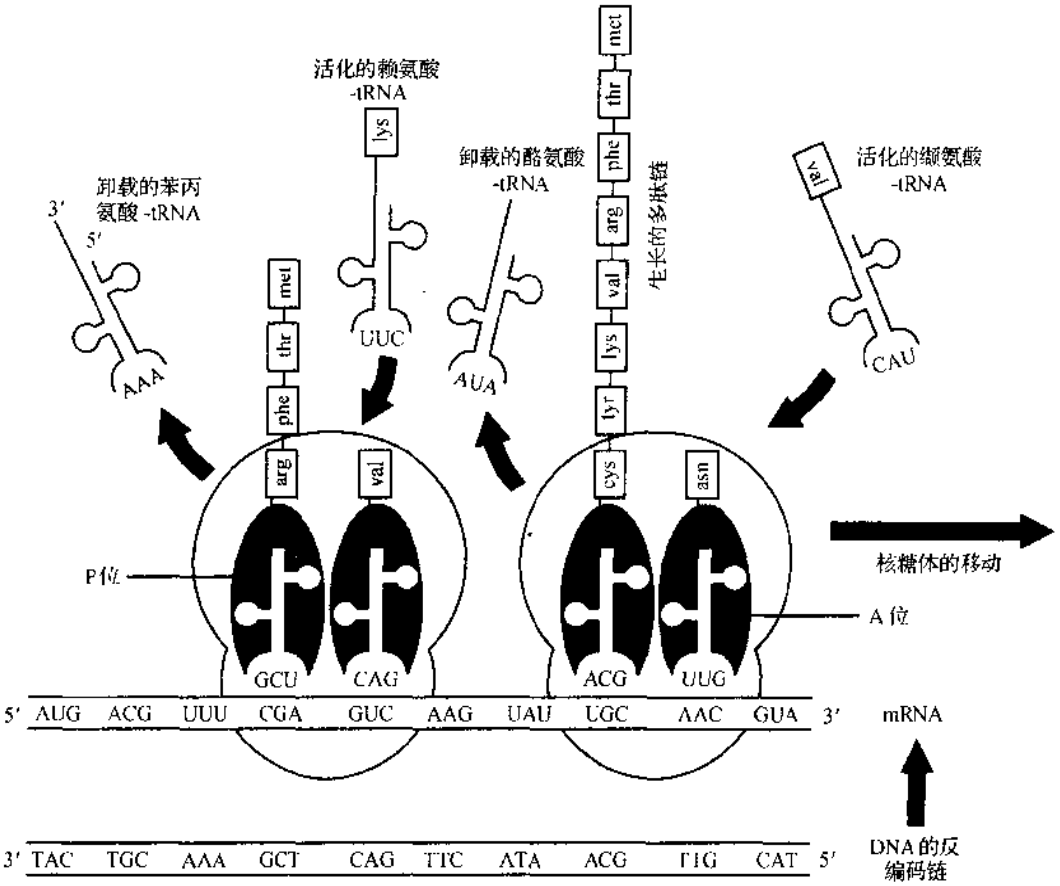


图 5-1 蛋白质合成图示。在细菌中，*N*-甲酰蛋氨酸(fMet)启动所有的多肽链的合成，而在真核生物中为蛋氨酸(Met)。(摘自 Schaum's Outline of Theory and Problems of Genetics, Third Edition, W. D. Stansfield, McGraw-Hill, 1991。)

5.9 细菌中翻译的延伸阶段发生了什么?

当第二个活化的 tRNA(例如一个负载了苏氨酸的 tRNA 分子)进入 A 位(还是通过特异的密码子-反密码子碱基配对)时，翻译的延伸阶段在一类被称为**延伸因子**(elongation factor)的蛋白质协助下开始进行。这使得 *N*-甲酰蛋氨酸和苏氨酸相互靠近致使在它们之间能够形成一个肽键；该肽键的形成是由被称为**肽酰转移酶**(peptidyl transferase)的核糖体成分所催化的。将 *N*-甲酰蛋氨酸固定于其 RNA 的 3′末端的氨酰键发生断裂，与此同时形成肽键。然后，"卸载"的 $tRNA^{fMet}$ 离开 P 位(通常与另外的 *N* 甲酰蛋氨酸再发生反应)。mRNA 在核糖体上**移动**(translocate)(移位)三个核苷酸的距离。一个新的打开的密码子现在位于 A 位上，而 fMet-Thr-$tRNA^{Thr}$(二肽复合物)在 P 位。第三个 tRNA(如负载了苯丙氨酸的 tRNA)进入 A 位；在第 2 个氨基酸(苏氨酸)和第 3 个氨基酸(苯丙氨酸)之间形成一个肽键；第 2 个卸载的 $tRNA^{Thr}$ 离开 P 位；mRNA 在核糖体上移位使下一个密码子(如精氨酸)位于 A 位；同时将负载 fMet-Thr-Phe 的 $tRNA^{Phe}$(三肽复合物)由 A 位转到 P 位。这个过程不断重复直到在 A 位上遇到终止密码子。

5.10 在细菌中如何终止翻译?

翻译的终止阶段(见问题 5.46)发生于该系统到达一个或多个 mRNA 终止密码子(UAA、UAG 和 UGA)的时候。在该位点上，在被称为**释放因子**(release factor)的蛋白质的协助下，多肽链从 tRNA 上释放出来；在核糖体离解成 30S 和 50S 亚单位的同时，mRNA 和最后一个 tRNA 从核糖体上释放出来。

转运 RNA(tRNA)

5.11　列出三类与特异 tRNA 相互作用的蛋白质并说明它们的功能。

①激活氨基酸并将其与相应的 tRNA 结合的酶;该酶被称为**氨酰 tRNA 合成酶**(aminoacyl-tRNA synthetase)。见问题 5.12。

②在它们合成过程中,对 tRNA 分子进行剪切和修饰的酶类(见问题 5.33)。

③负载的 tRNA 与核糖体复合物结合所需的蛋白质(见问题 5.38)。

5.12　氨基酸如何被活化以及 tRNA 如何被装载?

每个 tRNA 分子的末端均为 CCA－3′,在此同源氨基酸将与其末端的腺嘌呤结合。氨酰

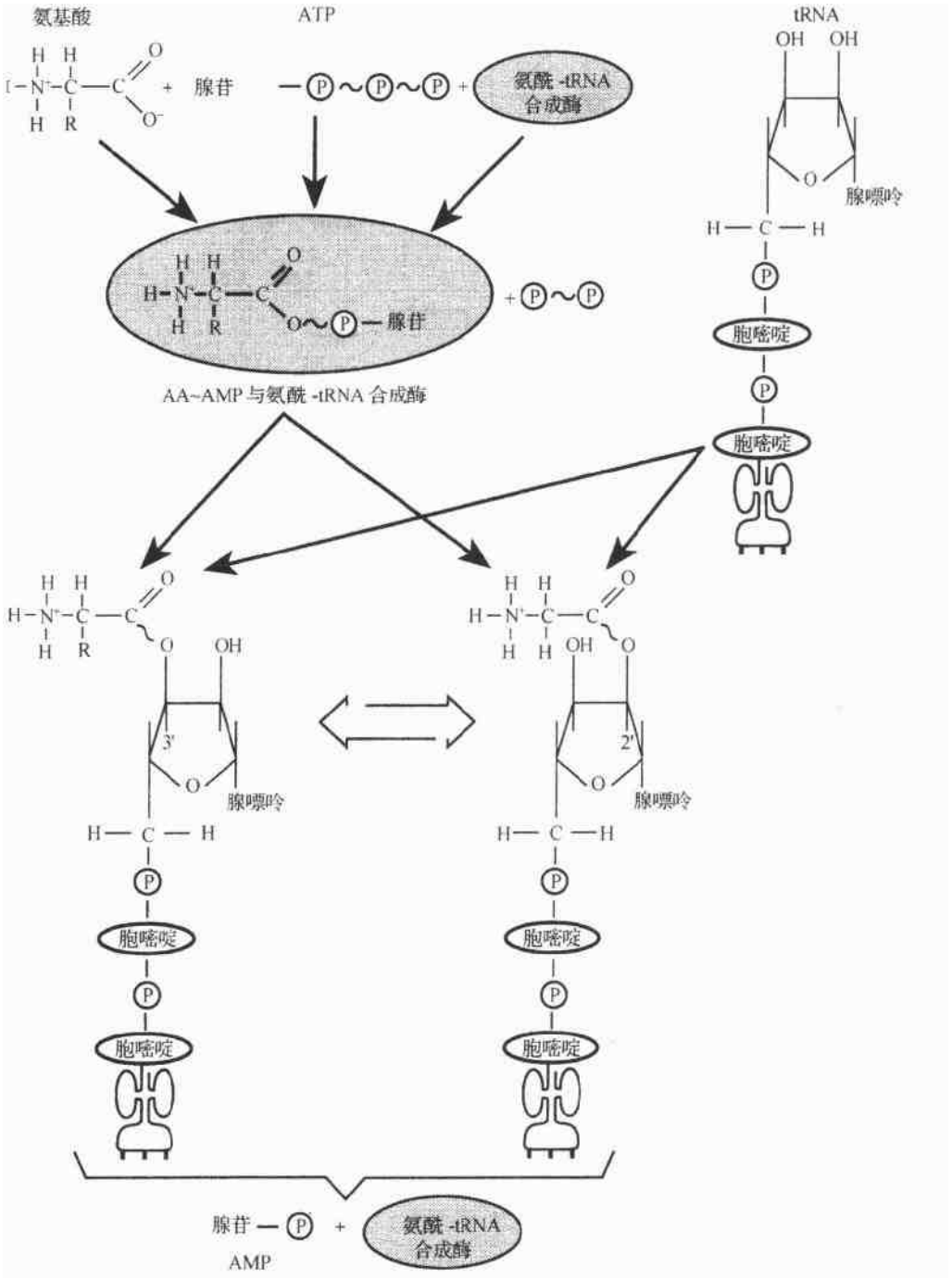


图 5－2　氨基酸的活化和 tRNA 分子的负载由相同的氨酰- tRNA 合成酶来完成。氨基酸可结合在末端腺嘌呤的 2′或 3′羟基位置,并可快速地在这两个位置间转换。

tRNA 合成酶即可活化氨基酸也可将已活化的氨基酸装载或转移到其自己的 tRNA。在氨基酸活化的过程中，这些酶催化**氨基酸腺苷酸**(amino acid adenylate)(AA～AMP，本书中用 AA 指代氨基酸)的形成。氨基酸羧基与其 tRNA 的末端腺苷酸(AMP)形成高能(～)**氨酰键**(aminoacyl bond)所需的自由能来自 ATP 中焦磷酸键(P～P)的裂解。

在一个 tRNA 分子加载的过程中，活化的氨基酸通过其羧基末端可与其 tRNA 分子中末端腺嘌呤的 2′或 3′羟基结合，并且其易于从一个位置转到另一个位置(如图 5-2 所示)。然而，在氨基酸被转移到生长的多肽链上的时候，该氨基酸必须被腺苷酸化在 3′位置上。在装载过程结束时，该合成酶和 AMP 将被释放。

5.13 在每个(可识别不同配体的)tRNA 合成酶结合位点上的底物是什么?

配体(ligand)是可与一个给定结构的互补位置结合的任何分子。在每个 tRNA 合成酶分子上至少存在三种不同配体结合位点：ATP 结合位点、互补(同源)氨基酸和其同源 tRNA 分子结合位点。

5.14 用于肽键形成的能源是什么?

氨基酸～tRNA 键(氨酰键)中的能量可用于形成能量较底的肽键。

5.15 翻译过程需要多少不同种类的tRNA分子?

由于在核糖体上合成的蛋白质中有 20 中氨基酸，因此，至少必须有 20 中不同种类的 tRNA分子。64 个可能的 mRNA 密码子中有 61 个是有意义的(即编码氨基酸)。因为密码子第 3 位的摆动现象，所以并不需要 61 种 tRNA 分子。不同物种之间实际所需的数量也是不同的。在细菌中有 30 或 40 种不同的 tRNA 分子，而在动物和植物细胞中有 50 种。

5.16 翻译过程需要多少氨酰- tRNA 合成酶?

装载同一氨基酸的所有 tRNA 被称为**同工受体**(isoacceptor)。与同义密码子结合的所有同工受体均被相同的氨酰- tRNA 合成酶所活化。因此，只需要 20 种合成酶。

5.17 氨酰- tRNA 合成酶在结构和功能方面有哪些是相似的?

尽管所有的合成酶都执行相同的功能(它们活化氨基酸和使 tRNA 加载)，但是，它们在分子的大小和多肽亚单位的数量等方面有很大的不同，属于不同类型的蛋白质。

核糖体 RNA(rRNA)与核糖体

5.18 细菌的核糖体有些什么特征?

①每个细菌核糖体的分子质量接近 3 百万道尔顿。

②两个主要的亚单位：大的是 50S；小的是 30S；它们总共为 70S。

③在细菌中 rRNA 与蛋白质分子质量的比值是 2∶1；而在其他大多数有机体中，该比值为 1∶1。

④小亚单位一般含有 21 个不同的蛋白质，每个只有一个拷贝；大亚单位含有 34 个蛋白质，其中之一有 4 个拷贝。

⑤在小亚单位中存在一个含有 1542 个核苷酸的 16S rRNA 分子；在大亚单位中存在一个含有 2904 个核苷酸的 23S rRNA 分子，它与一个含有 120 个核苷酸的 5S rRNA 分子结合在一起。

5.19 在细菌中 rRNA 分子执行什么功能?

许多 rRNA 的功能还不清楚，但下列是清楚的：

①小亚单位中靠近 16S rRNA 3′末端的几个未配对碱基与 mRNA 上 5′端起始密码子(起

始密码子的上游)的互补碱基形成临时的氢键。这些 rRNA 位点由共有序列 3′- AUUCCUCCA - 5′构成。实际上该共有序列在所有的细菌种类中都是相同的,并且,该共有序列可与 mRNA中被称为 **Shine-Dalgarno(SD)**序列(5′- AGGAGGU - 3′)全部或部分的互补核苷酸序列形成碱基配对。该 SD序列在起始密码子前面,通常为 8～13 个核苷酸。

②在 tRNA 与核糖体最初的结合过程中,大亚单位中核糖体 RNA 可与不同 tRNA 分子某些恒定的 tRNA 序列相互作用。

③大亚单位和小亚单位中 rRNA 分子之间的氢键形成可有助于在 mRNA 分子翻译过程中将这些亚单位保持结合状态。

④某些 rRNA 碱基可与小 RNA -蛋白质复合物(在细菌中该复合物指导新生蛋白质到达质膜,或在真核生物中指导新生蛋白质到达粗面内质网)形成氢键。

5.20 1968 年首次证明了大肠杆菌核糖体小亚单位可自动地进行自我装配。这是如何进行的?

在体外,将纯化的 16S rRNA 分子和纯化的 30S 亚单位的 21 种蛋白质混合制备成颗粒,该颗粒在体内具有正常的功能。核糖体的某些蛋白质可直接与 rRNA 结合。其他的在它们能与复合物结合之前,则需要某种蛋白质亚单位先与其结合。

5.21 细菌中,rRNA 和 tRNA 合在一起在细胞所有 RNA 中占的比例大于 98%。大多数细菌 DNA 编码蛋白质,只有少于总 DNA 的 1%的 DNA 编码 rRNA 和 tRNA。这个矛盾的意义何在?

成熟 rRNA 和 tRNA 要比 mRNA 稳定的多,这是由于它们具有广泛的互补区域,这些互补区域可使它们在整个长度上形成链内的互补碱基对。这样的双链区域较少被核酸酶裂解;而核酸酶易于消化整个长度均为单链的 mRNA。另外,在任何细胞中任何给定的时间,只有少量的编码蛋白质的基因被表达。在快速生长的细胞中,rRNA 基因充分的表达。rDNA 的扩增已在问题 3.10 中进行了讨论。

5.22 细菌基因的所有转录物都是以相同的方式形成的吗?

所有 RNA 都是由 RNA 聚合酶合成的。虽然,在细菌中 mRNA 转录物并不需要被修饰就可行使其功能,但是,对于 rRNA 和 tRNA 转录物,必须将较大的前体分子(前 rRNA,前 tRNA)通过酶促反应进行裂解。

5.23 细菌的 rRNA 和 tRNA 转录物中没有 rRNA 和 tRNA 功能的 RNA 区域名称是什么?

RNA 前体分子的 5′末端的可降解片段称为**先导**(leader)区域;在 3′末端被去掉的区域称为**尾随**(trailer)区域;在这些区域之间的非功能 RNA 片段称为**间隔**(spacer)区域。

5.24 所有 rRNA 都由相同前体分子形成,其优点是什么?

由于每个细菌核糖体都含有一个 23S、一个 16S 和一个 5S rRNA 分子,这将有利于确保这三个分子以相等的数量合成。

5.25 tRNA 由相同的前体分子形成的优点是什么?

至少有 7 个不同的 tRNA 被容纳在一个共同的前 tRNA 转录物中。并不需要等量的 tRNA,因此,现在还不清楚为什么有些 tRNA 形成于同一转录物。

5.26 tRNA 是如何从其前体分子形成的?

一个称为**核糖核酸酶 P**(ribonuclease P)(RNase P)的限制性内切核酸酶在前 tRNA 分子

中通过一个靠近每个 tRNA 的切口移走 5′一侧的核苷酸。一个称为 **RNase D** 的核酸外切酶剪掉多余的 3′核苷酸。当外切核酸酶到达每个 tRNA 的 CCA 末端时是什么信号使其停止的，现在还不清楚。

5.27 RNase P 有什么特殊的地方?

该酶是比较特殊的，它由蛋白质和 RNA 通过共价键连结形成的。RNA 分子含有 377 个核苷酸；这个小蛋白质的相对分子质量约为 20 000。在生理条件下，这两种成分都是该酶活性所需要的。然而，在含有高浓度镁离子的非生理缓冲液中，单独的 RNA 成分就可像**全酶**(holoenzyme)那样以几乎相同的速度进行准确的裂解，而且本身并不被降解。因此，RNase P 的 RNA 成分是被称为**核酶**(ribozyme)的新类型催化分子。在生命起源学说中核酶的意义将在 14 章讨论。

5.28 大肠杆菌中有多少遗传基因座编码 tRNA 和 rRNA?

细菌染色体上通常只有一个或两个特异的区域编码 30～40 个不同的前 tRNA 中的每一个。在大肠杆菌中，7 个复杂的基因座(每个含有被称为操纵子的基因协同调控的位点)编码前 rRNA 分子。这 7 个基因座的核苷酸序列只有 1%的不同。这些大量重复的基因座是适应快速的细胞生长而形成大量核糖体 RNA 分子所需要的。遗传重复序列在真核生物各种 DNA 序列中广泛的存在(特别是在不编码蛋白质的区域)，但是，在原核生物之中并不普遍，上述 rRNA 是一个极端的例子。一些前 rRNA 分子也含有 tRNA。一个或两个 tRNA 基因位于 16S 和 23S 之间的间隔中；在距 5S rRNA 较远的尾随区域中，有零个、一个或两个 tRNA 分子(图 5-3)。

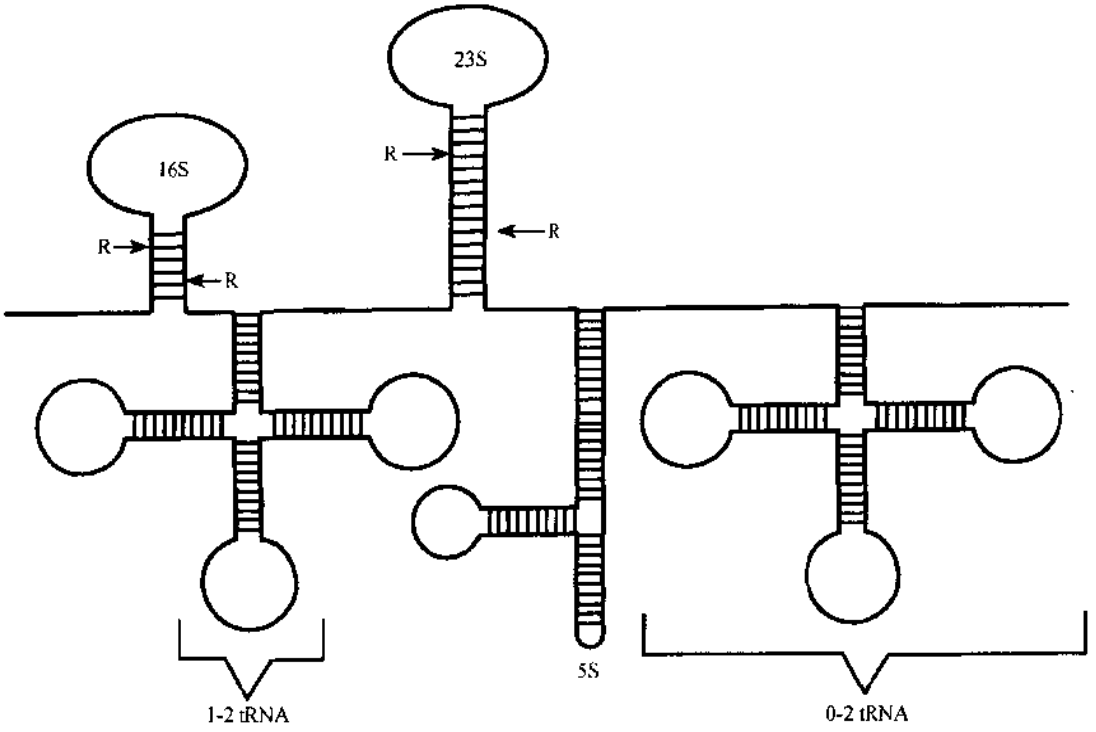


图 5-3 大肠杆菌前 rRNA 分子(也可含有一个或多个前 tRNA 分子)的一个例子。R 即核糖核酸酶Ⅲ(R Ⅲ)初级加工的位点。(摘自 Watson, J. D., et al., Molecular Biology of the Gene, Fourth Edition, The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., 1987。)

5.29 大肠杆菌中如何从初级转录物获得 rRNA?

位于 16S、23S 和 5S rRNA 侧翼的互补核苷酸序列可使 rRNA 前体形成双链区域，该区域可被一个叫做**核糖核酸酶Ⅲ**(ribonuclease Ⅲ，RNase Ⅲ)的内切核酸酶剪切。该双链区域

构成了"柄和环结构"的柄。每个环含有 rRNA 三种分子质量类型中的一种。某些核糖体蛋白质在前 rRNA 被完全转录之前就与其结合。RNase Ⅲ裂解产物的 5′和 3′进一步的修剪需要核糖体蛋白质的存在。因此,前 rRNA 的加工和核糖体蛋白质的装配是同时发生的。

信使 RNA(mRNA)

5.30 细菌 mRNA 的大小显著不同。tRNA 和 rRNA 是否也有这种现象?

细菌 tRNA 分子的相对分子质量约为 2.5×10^4;rRNA 大小有三种(对于 5S、16S 和 23S 分子分别为 4×10^4,5×10^5 和 5×10^6)。与 tRNA 和 rRNA 比较,mRNA 分子在分子质量上变化较大,这主要源于两个因素:一个是每个结构基因的长度,另外一个是结构基因中编码 mRNA 分子的数量。某些细菌 mRNA 是单顺反子,即该 mRNA 分子含有一个单独的编码一条多肽链的结构基因。然而,许多细菌 mRNA 是多顺反子(含有两个或多个编码相同数量多肽链的结构基因)。

5.31 与 rRNA 和 tRNA 不同,细菌 mRNA 分子不是来自较大的前体分子的裂解,因此,并没有先导、间隔和尾随片段。mRNA 分子含有不被翻译为蛋白质的先导、间隔和尾随序列吗?

每个细菌 mRNA 的 5′末端具有一个非翻译的先导区域。该区域含有 SD 核苷酸序列,并作为与 30S 核糖体亚单位中 16S rRNA 的 3′末端结合的识别位点。每个 mRNA 3′末端含有一个非翻译的尾随区域,在细菌中其功能尚不清楚;在真核生物中该尾随区域含有酶的结合位点,在 mRNA 离开细胞核之前,该酶可将一个多聚 A 尾巴加到 mRNA 上。大多数(如果不是全部)被同一细菌 mRNA 编码的多肽链通常与同一代谢途径有关。例如,从分支酸合成色氨酸所需的 5 个酶被同一多顺反子 mRNA 中核苷酸序列所编码;这些序列中的每个序列在同一 mRNA 中被非编码片段(间隔片段)相互隔离。

5.32 假设正在合成血红蛋白的网织红细胞(不成熟红细胞)被短暂地暴露于放射性标记的氨基酸中,并立即将新合成的(游离的,未与核糖体结合的)血红蛋白链进行快速分离。标记的时间是短的,这与合成一条完整链所需的时间有关。把这些链的片段进行分析,并发现从氨基末端到羧基末端存在一个放射活性逐渐增加的梯度。这些结果说明了什么?

在短暂地暴露于放射活性的氨基酸之前,大多数血红蛋白链至少已经被部分地合成了。在从暴露于放射性到分离和分析的短暂时间间隔中,只有较少的链开始合成。在合成的链羧基末端发现较多的放射活性说明:翻译进程是从这些多肽链的氨基末端到羧基末端。

5.33 为什么细菌 mRNA 翻译起始密码子(AUG)编码 *N*-甲酰蛋氨酸,而内部的 AUG 密码子编码蛋氨酸?

有两类细菌蛋氨酸受体(tRNA 分子)。在蛋氨酸与受体分子结合后,通过转甲酰酶的催化作用一个甲酰基(COH)加到蛋氨酸分子上,其符号为 $tRNA^{fMet}$。负载了其同源氨基酸的氨基酰 tRNA 的名字为 $fMet\text{-}tRNA^{fMet}$。另外一个负载的受体(符号为 $Met\text{-}tRNA^{Met}$)不被转甲酰酶所识别。符号 $Met\text{-}tRNA^{Met}$ 有时用来表示该 tRNA 已正确地负载了其同源氨基酸(蛋氨酸),而不是错误地负载了某些别的氨基酸,如天冬氨酸($Asp\text{-}tRNA^{Met}$)。在翻译的起始阶段中,一个蛋白质翻译起始因子只识别负载的 $fMet\text{-}tRNA^{fMet}$,因此,在所有细菌初级翻译产物的 5′末端甲酰化的蛋氨酸是特异的。翻译的延伸因子在内部 AUG 密码子位置只促进 $tRNA^{Met}$(而非 $tRNA^{fMet}$)的利用。

5.34 为何 mRNA 5′-GUG-3′偶尔也可作为翻译起始的信号?

正常情况下,5′-AUG-3′mRNA 密码子通过与 $tRNA^{fMet}$ 3′-UAC-5′反密码子互补碱基配对被用于翻译的起始。通常情况下,摆动被限制在 mRNA 密码子的 3′末端和反密码子的 5′末端。缬氨酸密码子 5′-GUG-3′在细菌中也能作为起始密码子而起作用,但是,它被使用的机会要比 5′-AUG-3′少 10 倍。5′-UUG-3′和 5′-CUG-3′密码子在细菌中也可起始翻译过程,但是,它们被使用的机会要比 5′-GUG-3′还要少很多。$tRNA^{fMet}$ 参与 5′mRNA 摆动的能力可能源于这样的事实:一个未被修饰的腺嘌呤位于其反密码子 3′末端附近。其他所有的 tRNA 在该位置上均有一个烷化的衍生物(如在丙氨酸 tRNA 中是 1-甲基次黄嘌呤;见图 2-16 和 2-17)。

5.35 尽管所有细菌蛋白质在其 N 端是以 fMet 起始合成的,但是,许多的功能蛋白质是以非甲酰化的蛋氨酸或一些别的氨基酸为起始的。如何解释这个现象?

在某些情况下,在链合成开始后不久**去甲酰酶**(deformylase)就从生长的多肽链上把甲酰基去掉。在另外的一些情况下,Met-特异的氨肽酶将 N 端蛋氨酸去掉,而生长的多肽链中的"第二个"氨基酸就成为加工后的多肽链的起始。

5.36 列出 70S 翻译起始复合物的所有成分。

①30S 核糖体亚单位;②fMet-$tRNA^{fMet}$;③mRNA;④50S 核糖体亚单位;⑤三个蛋白质起始因子(IF1、IF2、IF3);⑥鸟苷三磷酸(GTP;图 11-2b)。

5.37 细菌核糖体是如何在 mRNA 分子 5′末端起始的?以及是如何将起始子密码子 5′AUG 3′正确的定位使其与起始子 tRNA 的反密码子形成互补碱基配对的?

为其独立合成多肽产物,每个细菌 mRNA 分子均具有一个核糖体结合位点。核糖体与 mRNA 的结合保护 AUG 起始密码子附近的末端片段不被核糖核酸酶消化。被保护片段的长度约为 30 核苷酸。AUG 起始(起始子)密码子基本上在该保护片段的中部。在起始密码子的上游约 8~13 个核苷酸的中心位置是 Shine-Dalgarno(SD)序列——富含嘌呤并且通常为 AGGA 或 GAGG——该序列构成核糖体结合位点。mRNA 的 SD 序列与 30S 核糖体亚单位中 16S rRNA 链 3′末端富含嘧啶的序列互补配对。这种相互作用将 mRNA 的起始密码子置于一个适当的位置以便与起始 tRNA 的反密码子形成氢键。这两种碱基配对说明:与含有内部 AUG 密码子的其他位点不同,确实存在一个真正的起始子区域。

5.38 70S 起始复合物的形成主要有四个步骤。在每个步骤中都发生了什么?

在第一个步骤中(图 5-4a,b),三个蛋白质起始因子(IF1、IF2、IF3)和 GTP 与 30S 核糖体亚单位结合。IF3 协助 30S 核糖体亚单位与 mRNA 的 SD 序列结合。IF3 抑制 50S 亚单位与 mRNA 的结合。然后(图 5-4b)GTP 与 F2 结合,EF1 可稳定这种结合。N-(fMet-tRNA)-F2-GTP 复合物与 30S-F3-mRNA 复合物结合。IF3 被释放(图 5-4b,c)。这就完成了**30S 起始复合物**。在最后的步骤中(图 5-4c,d),GTP 的水解释放出 IF1、IF2、GDP 和磷酸,并允许 50S 亚单位的结合。最后聚集成**70S 起始复合物**(图 5-4d)。

5.39 核糖体的哪个亚单位形成 A 和 B 位点?起始 tRNA 首先进入 A 位还是 P 位?

每个核糖体具有两个 tRNA 结合位点(图 5-5a):一个是肽酰基(P)位;另一个是氨酰基(A)位。这两个位点是由 30S 和 50S 亚单位共同形成的。A 位点中的 mRNA 密码子使该

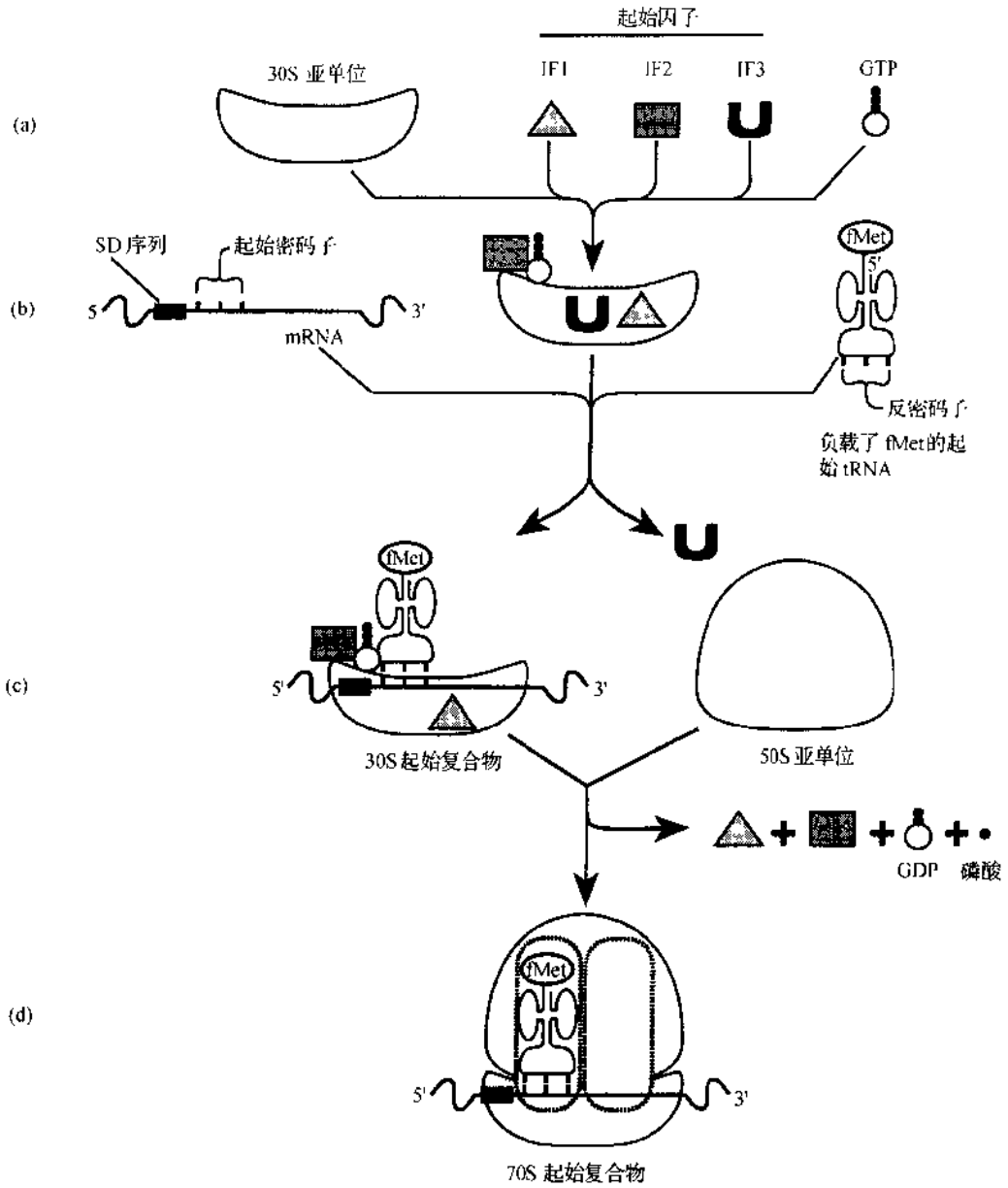


图 5－4　细菌中翻译起始阶段图示。

tRNA结合位点只特异地与惟一的 tRNA 分子结合。

现在还不清楚是否起始 $tRNA^{fMet}$进入 A 位或 P 位。然而，在第二个 AA～tRNA 与核糖体结合之前，所有 AA～tRNA 必须在 P 位中(图 5－5b)。

5.40　当一个肽酰－ tRNA 在核糖体上从 A 位移位到 P 位，A 位是空的。在一个 AA～tRNA 进入空的 A 位之前，有什么事情发生?

延长因子 Tu(EF-Tu)与 GTP 和 AA～tRNA(例如负载一个甘氨酸)相互作用形成一个复合物(图 5－5b)。除了 $tRNA^{fMet}$，EF-Tu 能与每个 AA～tRNA 结合。该 AA～tRNA 部分进入 A 位并释放出一个游离的 EF-Tu-GDP 复合物和磷酸。延伸因子 Ts(elongation factor G)(EF-Ts)通过其自身与 EF-Tu 结合由 EF-Tu 置换 GDP。当(EF-Tu)-(EF-Ts)复合物与 GTP 结合，以及(EF-Tu)-GTP 复合物形成，释放 EF-Ts。因此，(EF-Tu)-GTP 重新形成，并与另外的 AA～tRNA 结合，循环重新开始。

5.41　在翻译的延伸阶段肽酰－ tRNA(或 AA～tRNA)如何从 A 位移到 P 位?

肽酰－ tRNA(及其结合的 mRNA 密码子)从 A 位移到 P 位的过程称为移位。它发生在

肽键形成之后(图5-5c,d)。在A位中与tRNA结合的氨基酸作为P位中tRNA上肽的受体。然后,A位中肽酰-tRNA在肽酰转移酶(50S亚单位的主要成分),**延伸因子G**(elongation factor G)[EF-G;也称为**移位酶**(translocase)]和GTP水解的参与协助下移到P位。与移位同时,mRNA通过30S亚单位也移动一个密码子,并且,卸载的tRNA离开P位。

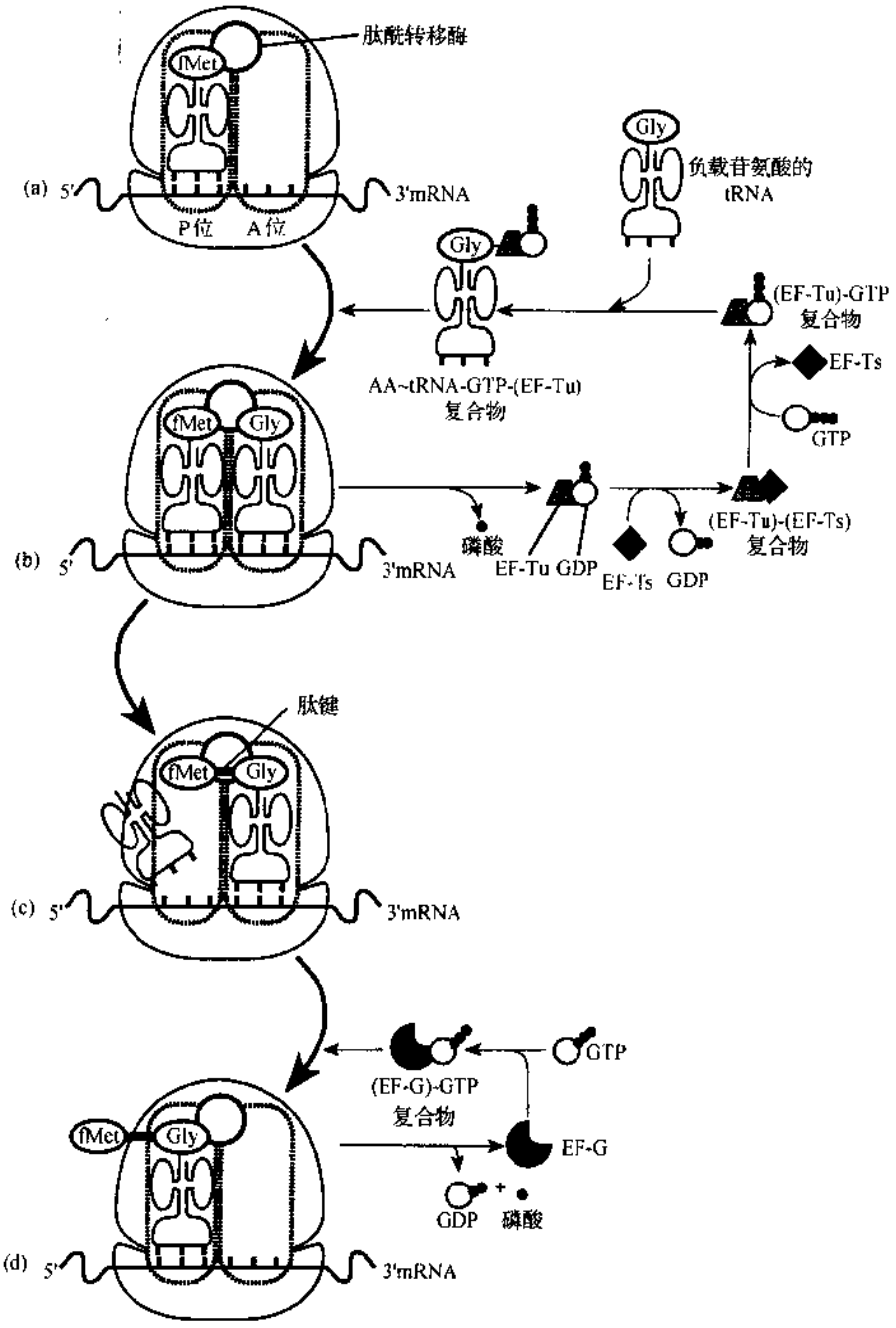


图5-5 细菌中翻译延伸阶段的图示。(a)fMet-tRNA在P位;A位是空的;(b)甘氨酰-tRNA(作为一个例子)进入A位,通过EF-Ts重新形成(EF-Tu)-GTP复合物;(c)肽键形成和卸载的fMet-tRNA离开P位;(d)肽酰-tRNA在EF-G和GTP的协助下从A位移到P位;为第三个AA~tRNA复合物进入A位开始另一个延伸循环做准备。

5.42 EF-G(移位酶)如何循环?

P位空了以后,(图5-5c),一个(EF-G)-GTP复合物与70S亚单位结合。这刺激GTP水解为GDP和磷酸(图5-5d)。肽酰-tRNA移至P位,EF-G和GDP被释放。EF-G可通过与GTP联合形成新的(EF-G)-GTP复合物而被重新活化。

5.43 有没有这样一个途径：多肽链延伸易被随机地中断而产生各种长度的不完整的多肽链？

抗生素**嘌呤霉素**(puromycin)是所有细胞生长的强有力的抑制剂。由于它并不是特异地只对微生物，因此，它不能作为治疗用抗生素来使用。但它可被用来研究翻译过程。它结构的一部分与氨基酸的氨基端相似。它也可结合在核糖体的 A 位，并通过**竞争性抑制**(competitive inhibition)阻止一个正常的 AA～tRNA 的进入。肽酰转移酶将 P 位中新生多肽链转移到 A 位中的嘌呤霉素上。嘌呤霉素比 AA～tRNA 分子要小得多，并且与 A 位的结合也较弱。因此，以嘌呤霉素为末端的链从核糖体上解离，形成各种长度的不完整的多肽链。将这些链进行分析，发现嘌呤霉素存在于它们的羧基末端，这提供了另外的证据：翻译的方向是由氨基末端到羧基末端。

5.44 抗生素如何通过影响细菌翻译而阻止蛋白质合成的一些其他例子是什么？某些抗生素如何能够不伤害真核细胞而只抑制或杀死细菌？

(EF-G)-GTP 复合物在翻译过程中行使完功能后，**梭链孢酸**(fusidic acid)可阻止其释放而阻止其后的移位。氯霉素抑制肽酰转移酶阻止肽键的形成。链霉素与 30S 亚单位结合，并干扰链的起始。

翻译过程的复杂性提供了许多位点，在这些位点上，药物和抗生素可参与中断或改变翻译过程。进一步来讲，在原核生物和真核生物翻译成分和过程方面存在许多差异，因此，某些抗生素可直接特异地作用于细菌，而真核细胞不受影响。

5.45 什么时候多肽链折叠成三级结构？

在合成的延伸阶段新生多肽链就开始折叠。在链终止其合成之前，多肽链最终形态就已经几乎完成。如果完整的多肽链将作为酶来行使功能，即使在它们从核糖体上释放之前，某些接近完成的链就可显现催化活性。

5.46 细菌中多肽链终止过程的描述。

在细菌终止翻译过程中，三个 mRNA 终止密码子中至少有一个必须存在。终止密码子紧随编码多肽链中最后一个氨基酸密码子之后。没有任何 tRNA 可识别这些终止密码子。而蛋白质释放因子(RF)可识别它们。终止密码子 UAG 和 UAA 被 RF1 所识别；终止密码子 UGA 和 UAA 可被 RF2 所识别。这两种 RF 可诱导肽酰转移酶将生长的多肽链转移到水中，并从核糖体的 P 位中的 tRNA 将多肽链释放出来。第三个释放因子(RF3)(被认为是与 IF3 相同)可刺激 30S 和 50S 亚单位与 mRNA 解离，以及 30S 和 50S 亚单位相互分开。由于核糖体亚单位的解离和 P 位的消失，卸载的 tRNA 被释放出。

5.47 在翻译过程中 ATP 和 GTP 的作用有何不同？

ATP 用于形成高能氨酰键；该键将活化的氨基酸与其 tRNA 受体分子连接。比较来看，GTP 不用于形成任何共价键；它与各种翻译因子(IF2，EF-G，EF-Tu)非共价键的形成有关。一般认为：GTP 的存在将诱导翻译因子发生形态变化；而这种变化是它们与核糖体结合所必需的。GTP 裂解为 GDP 将使这些翻译因子复原为它们最初的形状，并且与核糖体解离。

5.48 在翻译中错误的比率是多少？

每 10^4 氨基酸的聚合，约有一个氨基酸被错误地组合进多肽链中。因此，每 25 个平均大小(400 个氨基酸)的蛋白质分子中只有一个可能含有一个错误(该错误可影响或不影响该蛋白质的功能)。

5.49 什么机制保证翻译过程的正确性?

氨酰- tRNA 合成酶的一个识别位点对于一类氨基酸的侧链具有高度的(但不是绝对的)特异性。在同一合成酶分子上的另外一个位点对于携带同一氨基酸的所有同工受体具有特异性。如果一个不正确的活化氨基酸与一个 tRNA 分子接触,正常情况下在其与一个延伸因子相结合之前,合成酶将通过水解作用把它移走。如果错误的 AA～tRNA-(EF-Tu)-GTP 复合物将要进入核糖体的 A 位,异常密码子的识别将使 GTP 成分被水解成 GDP 和磷酸,由此将使 EF-Tu 与复合物解离。一个错误 tRNA 与 mRNA 密码子的微弱的氢键结合通常将导致该 tRNA 更快地离开 A 位。在密码子-反密码子碱基配对和肽键形成中一点点不正确可为错误的 AA～tRNA 离开(使多肽链不再延长)提供一个机会。这个过程被称为"**校对**"。校对被定义为在蛋白质或核酸合成的聚合过程中修正错误的任何机制。

5.50 每个氨基酸加到一个多肽链上必须裂解多少高能键?

如果没有修改需要,至少有三个必须被裂解。氨基酸在与其 tRNA 受体结合之前必须被活化。该步骤能量是由 ATP 降解成 ADP 来提供的。一个分子的 GTP 在(EF-Tu)-GDP 复合物的释放过程中被水解。最后,一个 GTP 分子由 EF-G 复合物水解而使肽酰- tRNA 从核糖体的 A 位移到 P 位。

5.51 有什么机制可以阻止细胞过度地形成多于实际需要的核糖体?

当细菌细胞缺乏氨基酸时,两类稀有鸟嘌呤核苷酸(鸟苷四磷酸,pp5′- G - 3′pp,也被成为"魔幻斑点",以及鸟苷五磷酸,ppp5′- G - 3′pp)将大量积聚。当一个空载的 tRNA 分子占据一个 A 位的时候,一个被称为**应急因子**(stringent factor)的酶利用 ATP 作为焦磷酸(P～P)的供者来把 GDP 转换为魔幻斑点。通常,只有氨酰- tRNA 可由 EF - Tu 放入 A 位中。但是,当氨酰-tRNA不能被利用时,空载的 tRNA 可进入 A 位。魔幻斑点可特异地导致 tRNA 和 rRNA 分子合成减少 10～20 倍,并且在所谓的**应急反应**(stringeat response)中 mRNA 的合成约减少 3 倍。蛋白质的降解增加,核苷酸、碳水化合物和脂类的合成减少。这些稀有的鸟嘌呤核苷酸特异地抑制在细菌编码 rRNA 的操纵子中启动子的转录起始。它们也抑制许多模板转录延伸阶段,但是这种抑制作用的特异性仍令人费解。

5.52 在一个 mRNA 分子上有多少核糖体可同时被翻译?

多数核糖体共同结合一个给定的 mRNA 分子被称为**多聚核糖体**(polysome)。多聚核糖体的大小有赖于 mRNA 的长度,并且核糖体以一定的频度结合在细菌 mRNA5′末端的 SD 核糖体结合位点。在 SD 区域中核苷酸序列的差异,致使某些 mRNA 对核糖体有极强的亲和力;而另外一些序列对核糖体只有微弱的亲和力。虽然,每 30 个 mRNA 核苷酸可以结合一个核糖体,但是,mRNA 链最大限度利用的比例也只是每 80 个 mRNA 核苷酸一个核糖体。

5.53 信使 RNA 只占细胞总 RNA 的 1%～2%。而某些蛋白质需要大量的被合成。这是如何实现的?

由于每个 mRNA 可同时被多个核糖体翻译,因此,大量的多肽可由一个 mRNA 分子合成。一个 mRNA 分子上结合的核糖体越多,该 mRNA 分子就越不容易被细胞 RNase 降解。mRNA 分子的平均半衰期只有 1～2 分钟。如果平均一个细菌蛋白质含有 300 个氨基酸,该蛋白质可在 20 秒内被合成完毕(每秒合成 15 个氨基酸)。在理想的培养条件下细菌转录的速度(每秒 14 个密码子)与翻译的速度基本相同。如果在同一个 mRNA 分子上许多核糖体相距 80 个核苷酸一个接一个的排列,那么,一个由 900 个核苷酸构成的 mRNA 就可被约 12 个核糖体同时翻译。

5.54 蛋白质是如何到达它们在细胞膜和周质间隙中目的地的?

大多数以质膜或质膜外为目的地的蛋白质合成时,在它们的 N 端有 15～30 个额外的氨基酸;这些额外的氨基酸并不出现在成熟的或已特异定位了的蛋白质中。该末端序列富含不带电荷的(通常为疏水的)氨基酸;该序列被称为**信号序列**(signal sequence)。有假说认为:信号序列和附近区域各自折叠成短的螺旋片段,并且该片段折曲成反平行的螺旋状态;该结构将滞留在内膜疏水的脂质双层中。

翻译带有信号序列(肽)蛋白质的核糖体将与膜结合,这是由于疏水序列倾向将自身埋入脂质膜中以此来躲避水。一旦 N 端把多肽锚定在膜中,该链的剩余部分通过膜突出到另外一面。如果第二个疏水区域被翻译完成,它也将滞留在膜中。该信号序列通常被特异的**信号肽酶**(signal peptidase)剪掉。如果没有疏水区域在 N 端被合成,剪修过的多肽将被释放游离进入周质。现在还不清楚以外膜为目的地的蛋白质是如何特异定向的。

真核生物中的翻译

真核生物中的翻译过程基本上与细菌中的相同,但是,在几个重要的方面是有差异的。

5.55 真核生物的核糖体亚单位在分子量方面与原核生物的有何不同?

从结构上来讲,每个真核生物核糖体由 40S 和 60S 亚单位构成,并且这两个亚单位聚合构成 80S 的复合物。因此,真核生物核糖体比细菌核糖体各相应部分(30S+50S=70S)要大。

5.56 真核生物中的转录和翻译是像细菌中那样相互偶联过程吗?

在原核生物、线粒体和叶绿体中,转录和翻译是相互偶联的。也就是说,当细菌 mRNA 的 5′末端被转录后,核糖体可立即与其结合并开始翻译。然而,在真核生物中,初级转录物必须被加工成为功能性 mRNA 分子,而且,在翻译开始之前必须从细胞核转运到细胞质中(第 4 章)。因此,对于真核生物核(染色体的)基因,转录和翻译并不是偶联过程。

5.57 一个真核生物 mRNA 分子能编码一个以上的蛋白质吗?

大多数细菌 mRNA 可编码多个蛋白质(在蛋白质加工前),而所有真核生物 mRNA 只编码单一的新生多肽链。然而,某些新合成的多肽链最后可被酶解为两个以上的功能性蛋白质组分。像这样的多组分蛋白质被称为**多蛋白质**(polyprotein)。

例 5.1

被称为 pro-opiomelanocortin 的多蛋白质是由垂体前叶合成的。首先在近羧基(C)端切断生成 β-促脂解激素。然后在近氨基(N)端切断生成促肾上腺皮质激素(ACTH)。在垂体间叶中,β-促脂解激素被进一步消化,释放出 C 端肽 β-内啡肽;ACTH 被裂解释放出 α-促黑素。

5.58 真核生物中翻译的起始阶段与原核生物中的有何不同?

虽然只有三个明确的起始因子参与大肠杆菌 mRNA 的翻译过程,但在真核生物中却需要更多的起始因子参与。真核生物起始因子被命名为 **eIF**,以使其区别于细菌中的相应物质(IF)。在起始阶段,一个特异的起始 tRNA($tRNA^{iMet}$)携带一个未被甲酰化的蛋氨酸进入核糖体的第一个位置。在真核生物中没有与原核生物 SD 序列相对应的特异核糖体结合位点。一般认为,40S 核糖体亚单位与 mRNA 带帽的 5′末端结合,然后开始滑动(消耗 ATP),直到它遇到第一个 AUG 密码子并开始翻译。真核生物中只有 AUG 是有效的启动子;而在大肠杆

菌中虽然使用频率非常低，但有时也会使用 GUG、UUG 和 CUG 等作为启动子。在原核生物中，IF1、IF2、IF3 和 mRNA 均在启动氨酰- tRNA 结合前与 30S 核糖体亚单位结合。然而，在真核生物中，在结合到 40S 核糖体亚单位之前，启动氨酰- tRNA、GTP 和 eIF2 先形成一个复合物。

5.59 真核生物翻译的延伸和终止阶段与原核生物中的有何不同?

真核生物中有三个与细菌中不同的延伸因子。真核生物中单一的终止因子或释放因子(RF)取代了细菌中的 RF1 和 RF2。RF 可识别所有的三个终止密码子(UAG、UAA 和 UGA)。

5.60 什么是分子伴侣? 在真核生物中它们有什么功能?

许多蛋白质可自身自然地折叠形成适当的三级结构。然而，某些蛋白质需要通过与各种多肽相互作用来达到正确的折叠形状。这些协助的肽被称为**分子伴侣**(molecular chaperone)。这些伴侣中的一部分是**热激蛋白质**(heat-shock protein，Hsp)；它们可由真核细胞对温度的增加进行反应性合成。然而，Hsp 也可存在于正常条件下的细胞中；它们对于生命也许是非常重要的。分子伴侣在多亚单位蛋白质中，也可保护多肽链过早地成熟或无意义的联合。某些分子伴侣在新生多肽链于核糖体上合成时就与其结合；它们也许可协助该肽链从真核生物 60S 核糖体亚单位的孔道中移出。其他分子伴侣也许可使正在翻译的多肽链保持一个非折叠的构象，以此协助它们通过膜而进入内质网或线粒体中。一旦跨过相应的膜，该多肽被传递给另外一个不同的分子伴侣，并由这个分子伴侣协助其正确折叠成功能性蛋白质。

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 在细菌翻译起始阶段中，下列(　　)是最先与 30S 核糖体亚单位分离。 (a)IF1 (b)IF2 (c)IF3 (d)GTP (e)tRNA
2. 在细菌细胞中蛋白质合成的最大速度(氨基酸/秒)是(　　)。 (a)约 0.5 (b)3～4 (c)12～15 (d)30～40 (e)75～100
3. 对于一个给定的核糖体有(　　)多肽链可同时合成。 (a)1 个 (b)约 12 个 (c)多至 30 个 (d)不确定，依赖于 mRNA 的长度 (e)不确定，依赖于 mRNA 的长度和温度
4. 下列(　　)氨基酸只由一个密码子所编码。 (a)谷氨酰胺 (b)色氨酸 (c)天冬酰胺 (d)异亮氨酸 (e)以上没有
5. 不参考表 5.1，回答下列问题。下列 mRNA 密码子中的(　　)单一核苷酸突变很有可能是一个"沉默"突变。 (a)5′- CAU - 3′→CUU (b)5′- UUU→UUC (c)5′- AGA→CGA (d)5′- GUG→GGG (e)5′- UAU→UAG
6. 使用表 5.1，回答下列问题。在细菌的无细胞系统中，人工合成的重复的 mRNA 杂聚物 5′...CGACGACGA...3′将编码(　　)氨基酸。 (a)只有聚精氨酸 (b)只有聚天冬酰胺 (c)只有聚苏氨酸 (d)3 个同聚物：精氨酸、天冬酰胺和苏氨酸 (e)以上没有
7. 药物氯霉素阻断(　　)。 (a)细胞壁形成 (b)转录 (c)翻译终止释放因子 (d)多肽链的延伸 (e)多肽链的起始
8. 在大多数细菌细胞中，mRNA 占 RNA 的百分数是(　　)。 (a)75%～85% (b)50%～60% (c)35%～40% (d)10%～15% (e)少于 5%
9. 与负载的 tRNA 分子 3′末端相似的抗生素是(　　)。 (a)链霉素 (b)青霉素 (c)稀疏霉素 (d)嘌呤霉素 (e)四环素

10. 下列(　　)不是真核生物的特征。 (a)核糖体比原核生物中的大 (b)所有 mRNA 均编码单一蛋白质或多蛋白质 (c)不存在与原核生物中 SD 序列相应的核糖体结合位点 (d)以蛋氨酸而不是 *N*-甲酰蛋氨酸启动所有多肽链 (e)比原核生物中需要更多的释放因子

是非题 正确答案写"T",错误答案写"F"。

1. 每个氨基酸在其被装载到同源 tRNA 上之前必须被活化。活化和装载步骤由同一个酶催化。
2. 在翻译过程中,氨基酸的侧链基团没有时间与 mRNA 模板接触。
3. 每个 tRNA 均以 CCA5′结尾。
4. tRNA 和其特异的氨基酸之间的键是共价的,高能键。
5. 催化肽键形成的酶是 30S 核糖体亚单位的一部分。
6. 结合不同密码子的同工受体 tRNA 分子由同一个氨酰-tRNA 合成酶活化。
7. 当转移至正在生长的多肽链时,每个氨基酸必须从末端 A 的核糖体 2′位置离开其 tRNA。
8. 每个细菌核糖体中存在有 3 种不同的 rRNA 分子。
9. 在几种不同的酶的协助下核糖体的各种 rRNA 和蛋白质成分被装配起来。
10. 在细菌细胞中,转录和翻译是偶联过程,即在 mRNA 被转录的同时该 mRNA 的翻译也在进行。
11. mRNA 分子的 3′末端编码其多肽产物的 N 端。
12. 在 mRNA 结合之前,30S 和 50S 核糖体亚单位必须被装配起来。
13. 酶催化降解信使 RNA 的速度要比 rRNA 或 tRNA 降解的速度更快。
14. 16S、23S 和 5S rRNA,它们分别以独立的大转录物被合成,而后这些转录物被修剪到其功能性的大小。
15. 某些前 rRNA 分子也含有 tRNA 分子。
16. 蛋白质是惟一的能与底物结合并催化生物化学反应的大分子。
17. 在原核基因组中极为少见基因重复序列。
18. 需要一个调控系统来保证:每个 23S、16S 和 5S rRNA 分子是以精确的比例被合成,并以此来适应核糖体的合成。

匹配题 将 A 栏中每个项目与 B 栏中一个项目相配对,使其具有最密切的联系。B 栏中的每个项目只使用一次。

A 栏	B 栏
1. 苯丙氨酸的同聚物	A. 密码子的第 3 位置
2. 肽酰转移酶	B. 起始蛋氨酸
3. 氨酰-tRNA 合成酶	C. 与 30S 核糖体亚单位结合;干扰链的起始
4. 核糖核酸酶	D. 氨基酸活化
5. 嘌呤霉素	E. tRNA 分子的 3′末端
6. 链霉素	F. 阻止 AA～tRNA 进入核糖体的 A 位
7. 摆动	G. 肽键形成
8. 转甲酰酶	H. 从其前体分子移去 tRNA
9. 核糖核酸酶Ⅲ	I. 从初级转录物移走 rRNA
10. CCA	J. 多聚 U

术语 除非特殊指明,每个答案为一个词。

1. 氨基酸与其 tRNA 结合的过程。

2. 将 mRNA 核苷酸序列转换为多肽链中氨基酸序列的过程。
3. 可识别同一个氨基酸，但结构上有所不同的转运 RNA。
4. 16S rRNA 之前的前 rRNA 核苷酸序列。
5. 在前 rRNA 转录物中，16S 和 23S rRNA 之间的核苷酸序列，或 23S 和 5S rRNA 之间的核苷酸序列。
6. 在前 rRNA 转录物中，5S rRNA 后面的核苷酸序列。
7. 一个描写任何 mRNA 分子编码一个以上单一多肽链的形容词。
8. 可被核糖体识别的细菌 mRNA 分子上的核苷酸序列。（以连字符相连的两个名字）
9. 降低错误氨基酸被编入多肽链中的错误比率的翻译步骤。
10. 一个描写这样反应的形容词：当细胞缺乏氨基酸，以及当大量的稀有核苷酸 pp5′-G-3′pp 或"魔幻斑点"堆积时发生的反应。
11. 具有催化能力的 RNA 分子。
12. 将被输送到细胞膜上或膜外的蛋白质 N 端的一组疏水氨基酸。（两个词）
13. 在翻译的起始和延伸阶段所需的高能化合物。（两个词或三个字母缩写词）
14. 延伸因子 G(EF-G)的同义词。

关于"翻译"的故事 选择合适的术语、单词、数字和字母添入每个括号中，完成这个故事。

在蛋白质形成中使用的单体称为(1)。蛋白质被合成的模板是(2)。每个(1)首先通过(3)分子裂解被(4)。每类(1)特异地与自己的受体分子相结合，该受体分子称为(5)。这种结合由被称为(6)的酶所催化。所有的(5)可被一个(7)形状的模型所表示，并且每个含有(8;多少?)主要的环。其中一个环含有一个(9;多少?)-核苷酸序列，该序列被称为(10)，它可与(2)中(11)的序列互补碱基配对。每个(3)(1)通过其(12)与其(5)分子的(13)末端的(14)核苷酸结合，这个过程被称为(15)。在蛋白质合成过程中，被叫做(16)的结构像夹具一样把(2)和(5)聚在一起。细菌的(16)由 2/3(17)和 1/3 蛋白质构成。细菌(16)大亚单位的大小是(18;数字)S，而小亚单位是(19)S。符号 S 是表示对(20)的尊敬，他是(21)的发明者。每条多肽链的生长方向是从其(22)-末端向其(12)末端。每个(16)有两个(5)结合位点。每个(1)～(5)复合物首先进入以字母(23)表示的位点，进而在相邻的(1)之间形成共价的(24)键，然后生长的链进入用字母(25)表示的位点。(24)键的形成使新生链转移到(23)位的(5)上。一个称为(26)的过程将携带新生链的(5)从(23)位移向(25)位，(2)移到下一个(11)，并且从(25)位释放出卸载的(5)。另一个循环开始。翻译过程主要由三个阶段构成。第 1 个阶段称为(27)，第 2 个阶段称为(28)，第 3 个阶段称为(29)。在前两个阶段中，高能化合物(30)被转换为(31)。所有这些阶段均需一个以上的蛋白质翻译因子的协助。所有细菌多肽链均以(1)(32)为开始，该氨基酸已被酶催化修饰加上了一个(33)基团。(29)阶段至少需要两个蛋白质的协助，这两个蛋白质称为(34)因子，它们识别(9)可能的(35)(11)的(36;多少?)。术语(37)是指一个(2)分子同时被多个(16)进行翻译时所构成的复合物。

答 案

选择题

1. c **2.** c **3.** a **4.** b **5.** b **6.** d **7.** d **8.** e **9.** d **10.** e

是非题

1. T **2.** T **3.** F(CCA3′) **4.** T **5.** F(50S 亚单位) **6.** T **7.** F(3′位置) **8.** T **9.** F

（自我装配） **10.** T **11.** F(5′末端) **12.** F(在 50S 亚单位加入之前 mRNA 与 30S 亚单位结合) **13.** T **14.** F(它们全是作为单独的转录物部分被合成) **15.** T **16.** F(例如：RNase P 的 RNA 成分就可做到这一点) **17.** T **18.** F(每个种类的一个分子从一个普通的前 rRNA 分子裂解而来)

匹配题

1. J **2.** G **3.** D **4.** H **5.** F **6.** C **7.** A **8.** B **9.** I **10.** E

术语

1. 装载或负载 **2.** 翻译 **3.** 同工受体 **4.** 先导(序列) **5.** 间隔 **6.** 尾随 **7.** 多顺反子 **8.** Shine-Dalgarno **9.** 校正 **10.** 应急 **11.** 核糖体 **12.** 信号序列 **13.** GTP 或鸟苷三磷酸 **14.** 移位酶

关于翻译的故事

1. 氨基酸 **2.** 信使 RNA(mRNA) **3.** 腺苷三磷酸(ATP) **4.** 活化 **5.** 转运 RNA(tRNA) **6.** 氨酰-tRNA 合成酶 **7.** 三叶草 **8.** 三个 **9.** 三个 **10.** 反密码子 **11.** 密码子 **12.** 羧基 **13.** 3′ **14.** 腺嘌呤 **15.** 加载或负载 **16.** 核糖体 **17.** RRNA **18.** 50 **19.** 30 **20.** Svedberg **21.** 超速离心 **22.** 氨基，或 *N*- **23.** A **24.** 肽 **25.** P **26.** 移位 **27.** 起始 **28.** 延伸 **29.** 终止 **30.** 鸟苷三磷酸(GTP) **31.** 鸟苷二磷酸(GDP) **32.** 蛋氨酸 **33.** 甲酰基(CHO) **34.** 释放 **35.** 终止 **36.** 两个 **37.** 多核糖体

6 突变

导　言

Lewis Thomas 在他的书《水母和蜗牛》中涉及到 DNA 时，写到："DNA 可轻度变异的能力真是令人惊奇，如果没有这种属性，我们也许仍然是一种厌氧的细菌，当然也不会有音乐。"突变是进化的绝对必要条件。有机体适应环境变化的能力，从根本上来说是基于群体基因库中突变的积累。群体中遗传的多样性可增加种系生存的机会。许多种系的有机体（例如恐龙）已经灭绝，这是由于其基因库并没有充分的异质化；若如此，至少可使群体少数成员能够适应正在变化的环境。在本章中，我们将讨论最重要的突变类型，突变如何发生以及它们如何被检测。

突 变 类 型

6.1 什么是突变?

突变是遗传物质发生了可以继承的改变，可改变任何的基因形式。这些变化形式的基因称为**等位基因**（allele）。科学家们认为：突变的类型基本上有两类，即：可影响基因的[也被称为**基因突变**（gene mutation）]突变，以及可影响整个染色体或染色体片段的突变。后一突变类型被称为**染色体畸变**（chromsomal aberration）。在核苷酸水平的基因突变一般也称为**点突变**（point mutation）。

6.2 基因突变的分子基础是什么?

核苷酸序列决定着 rRNA、mRNA 和 tRNA 的结构，也决定着活细胞所需的大量蛋白质的结构。为了种系的生存遗传信息必须准确地进行复制并传递给下一代。在 DNA 分子中基因的复制过程中任何错误（如插入、删除、以及一个或多个碱基替换）将导致突变。虽然细胞具有保证 DNA 复制过程准确性的机制，但是，每 $10^4 \sim 10^7$ 次的复制就会自然发生一次错误，这种错误将导致 DNA 分子序列中发生可遗传的改变。在实验室中，突变比率可通过暴露于物理（如：UV 和电离辐射）或化学试剂（称为**诱变剂**，mutagen）而大幅度地提高。

许多突变是由于 DNA 中核苷酸碱基的不稳定而造成的。当核苷酸碱基从被轰击的水分子吸收充分的能量后，它们将发生结构变化；这种变化称为**互变异构转换**（tautomeric shift）（图 6-1）。互变异构转换引起碱基中电子和质子的重新排布，由此它们不能再正常的配对（即：A=T 和 G≡C）。在不稳定的高能状态，G 与 T 配对，而 A 与 C 配对。如果在这些碱基转换返回其正常状态之前，这样的分子被复制，自然发生的互变异构转换可导致 DNA 分子被影响区域核苷酸序列中发生可遗传的改变（图 6-2）。

例 6.1

假设在 DNA 分子被复制时，一个碱基（如 A）在 DNA 聚合酶与其接触时发生了互变异构转换。这种情况如果发生，C 将被组入 DNA 的新拷贝链中而不是 T。另一个模板链在复制时将表现为正常的碱基配对。当带有错配区域的 DNA 被复制时，一个正常配对的突变体 DNA

分子将产生，并且一个 G-C 配对将代替原来的 A-T。

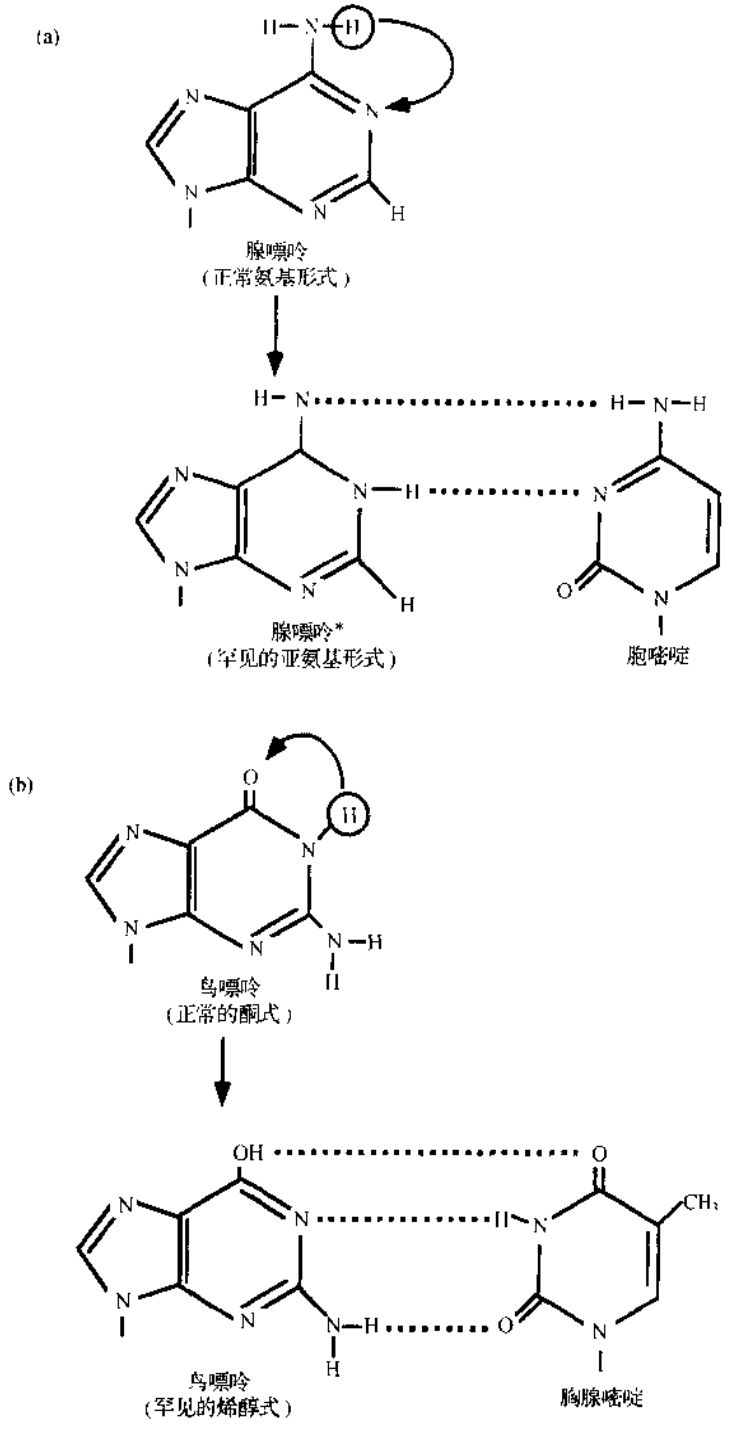


图 6-1　互变异构转换和异常的碱基配对。当分子重新排布它们的电子和质子时发生互变异构转换。互变异构转换可引起核苷酸中的碱基变得不稳定并相互异常配对。(a)不稳定的(*)腺嘌呤与胞嘧啶形成两个氢键(用点线表示)(A* ═C)；(b)不稳定的鸟嘌呤通过三个氢键与胸腺嘧啶配对(G* ≡T)。反之，不稳定的胸腺嘧啶与鸟嘌呤配对，而不稳定的胞嘧啶与腺嘌呤配对。

当化学诱变剂或高能辐射导致除去(删除)或向 DNA 分子中插入(添加)一个或多个核苷酸时，其他类型的遗传变化也可发生。在编码蛋白质的基因中发生插入和删除可引起**移码突变**(frameshift mutation)。从编码区域插入或移走一个碱基，这将改变 mRNA 分子的阅读框。

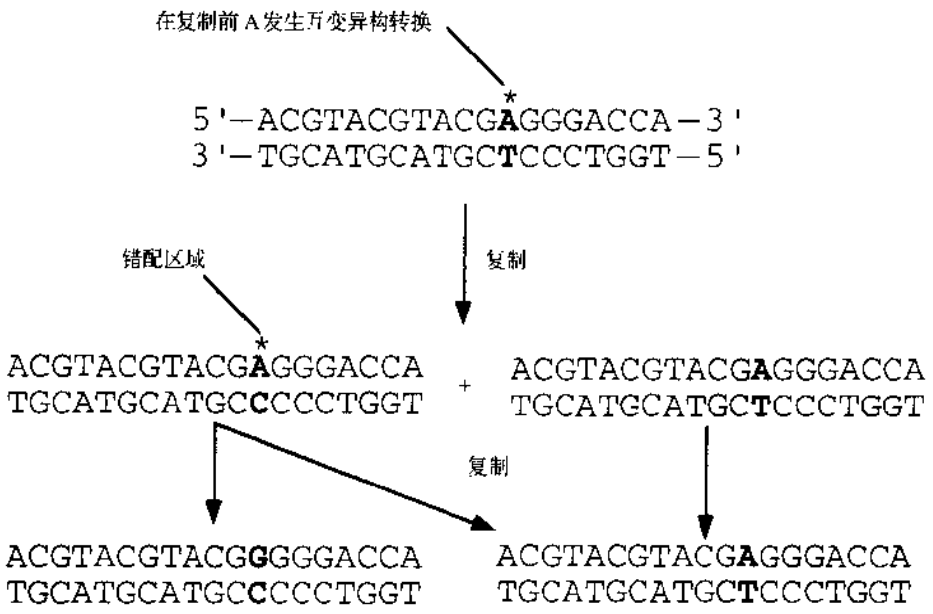


图6-2 互变异构转换引起异常碱基配对的过程。在DNA合成过程中模板链中的互变异构转换导致错误的核苷酸被组入DNA正在合成的链。当该DNA再被复制,其中之一子代DNA分子中含有一个已突变的碱基对。

6.3 什么是嘌呤和嘧啶的互变异构形式?

一个氢原子在碱基内从一个位置自然移动到另一个位置使其转变为一个交替异构形式(称为**互变异构体**,tautomer)(图6-1)。此过程本身就涉及互变异构转换。所有的嘌呤和嘧啶均可以互变异构体存在。胸腺嘧啶和鸟嘌呤正常是以**酮式**(keto)存在,但是,在以罕见的**烯醇式**(enol)存在时,它们可通过三个氢键分别与酮式的鸟嘌呤和胸腺嘧啶结合。同样,腺嘌呤和胞嘧啶正常是以**氨基**(amino)形式存在,但在以罕见的**亚氨基**(imino)形式存在时,它们可通过两个氢键分别与氨基形式的胞嘧啶和腺嘌呤结合。当互变异构转换发生时,已改变的碱基易于与错误的互补碱基配对,由此形成突变;该突变将导致一个不同的表型。Watson和Crick在试图解释DNA结构时遇到的主要阻碍之一是:他们所用的生物化学教科书中DNA碱基是以罕见的互变异构体形式来表示的。

6.4 作为互变异构转换的结果,碱基发生替换的类型是什么?

由互变异构转换导致的碱基替换可以是转换,也可以是颠换。在互变异构转换使一个嘌呤与另一个嘌呤相互置换(如A↔G)或一个嘧啶与另一个嘧啶相互置换(如T↔C)而导致错误配对时,就形成了**转换**(transition)。在一个嘌呤被一个嘧啶所置换或一个嘧啶被一个嘌呤所置换(A↔C或T↔G)时,就形成了**颠换**(transversion)。由于导致转换的结构变化相当小(变化只需较小的原子重排),所以转换发生的频度比颠换(需要更实质的分子修饰)要高。

6.5 转换和颠换的数量可表示有机体之间进化的关系吗?

在指定的基因或基因组中转换和颠换的数量可以被用来比较一个有机体与另外一个有机体之间的趋异进化程度。沿指定基因长度的碱基改变的数量可以表示与共同祖先之间的遗传的趋异性。

6.6 在DNA复制过程中,DNA聚合酶能改正某些错配的碱基吗?

某些DNA聚合酶具有3′→5′外切核酸酶的活性。这就赋予了这些聚合酶带有"校正"的

特性。当DNA聚合酶将一个错配的核苷酸加到正在生长的多肽链中的时候，DNA分子中发生的结构变化可被该DNA聚合酶中的一个亚基所识别(如：细菌DAN聚合酶III的ε亚基)。这导致在该错配碱基的5′端，将其切除，并在生长的肽链的末端留有一个游离的3′-OH基团，进入的碱基可与该基团形成磷酸二酯键。

6.7 编码多肽的基因中由碱基替换引起的点突变可导致错义突变、无义突变和同义突变。三种突变相互之间有何不同?

错义突变(missense mutation)引起一个有意义密码子与另外一个置换。

☞ **例 6.2**

镰状细胞贫血是一个很好例子来解释错义突变影响。正常的血红蛋白A分子(负责把氧从肺运输到身体的各个部分)由两个α和两个β链构成。正常的β链的前7个氨基酸是缬氨酸-组氨酸-亮氨酸-苏氨酸-脯氨酸-谷氨酸-谷氨酸。罹患镰状细胞贫血的个体具有一个突变的β链；在该链中作为多肽的第6个氨基酸的缬氨酸被置换为谷氨酸。这个突变导致在编码谷氨酸的第6个密码子(GAG)的第2个碱基由A颠换为U(图6-3)。由此第6个密码子的序列已成为GUG；该密码子编码缬氨酸。该错义突变形成的血红蛋白分子被称为**HbS**。只含有HbS的细胞在低氧张力的情况下易于变成新月(镰状)形状。这些细胞易于破裂，且不能像正常细胞那样通过毛细血管，进而导致贫血(也可能死亡)。

Hb A	1	2	3	4	5	6	7
DNA	CAC	GTG	GAC	TGA	GGA	CTC	CTC
mRNA	GUG	CAC	CUG	ACU	CCU	GAG	GAG
氨基酸	val	his	leu	thr	pro	glu	glu

Hb S	1	2	3	4	5	6	7
DNA	CAC	GTG	GAC	TGA	GGA	CAC	CTC
mRNA	GUG	CAC	CUG	ACU	CCU	GUG	GAG
氨基酸	val	his	leu	thr	pro	val	glu

图6-3 β-珠蛋白基因中单碱基替换引起的错义突变。

无义突变(nonsense mutation)可产生3个终止密码子(UGA、UAA和UAG)中的一个。无义突变形成的多肽比正常的要短。一般来讲，这些短的多肽不能正常的行使功能，这表示生物学特征的丧失。

☞ **例 6.3**

被称为McKees Rocks的β珠蛋白的变异体在其链中缺失最后的两个氨基酸(从氨基末端的第145和146位置上的氨基酸)。其发生的原因是：酪氨酸密码子UAU的第3位置的U被置换A。这个碱基的替换形成一个终止密码子UAA；它可导致多肽延伸的过早终止。

同义突变(samesense mutation)改变那些同义密码子(可被具有相同摆动的tRNA阅读)的第3位核苷酸。

☞ **例 6.4**

如果突变将甘氨酸的密码子由GGA改变为GGC，由于两个密码子都意味着甘氨酸的插

入，这将不形成明显的多肽氨基酸组成方面的变化。

6.8 一个基因可观察到的突变速率为什么多半要比"真实"的突变速率低?

突变是自然发生的，因而，在基因编码区域中任何指定的碱基(例如在125位的A)均可变成任何其他碱基(例如C)。若出现这种情况，就会形成突变。该突变可作为细胞的某些方面的表型变化而被检测到。如果在同一位置另一个突变事件将C转变为A，那么该细胞的表型将回复为野生型(**回复突变**，back mutation)。虽然两个突变事件发生在同一个基因内，但是，若只在第2个突变发生后对细胞表型进行分析评价将检测不到突变。同义突变和在不同密码子中可抵消其他突变的突变，以及突变抑制(问题6.11)等均可造成对实际突变速率的分析评价过低。

6.9 什么是热点?

尽管突变是自然发生的，但某些基因含有的区域较其他更易突变。这些位置称为**热点**(hot spot)。Seymour Benzer在对噬菌体T4 *r*Ⅱ基因座标志的拓扑学研究过程中首先证实了热点存在。Benzer对*r*Ⅱ基因座中全部1612个自然发生的突变进行了作图，发现该基因座中的60个位置表现出比期望数量大得多的自然突变。特别是他定位了两个位置，在这些位置中标出了100多个突变。他也在*r*Ⅱ基因座中发现了129个位置，在这些位置中根本不存在突变。这些突变的多样性的原因大部分还不清楚。

6.10 什么是移码突变?

移码突变是在基因编码区域内由于核苷酸或碱基的插入或删除所导致的突变。蛋白质合成装置是通过阅读连续的由3个碱基构成的密码子，并以起始密码子(AUG)为起点而对遗传密码进行翻译的。如果在编码区域中发生单个碱基的添加(插入)或移走(删除)，从这一点开始所有的密码子将发生变化。

例6.5

以下列的句子为例说明形成插入(或删除)后将会发生什么：**THE FAT CAT ATE HIS HAT**(肥猫吃了他的帽子)。如果一个I在第3个词的第2位置插入，该句子将成为：**THE FAT CIA TAT EHI SHA T**。由于插入已改变了阅读框，这个新句子没有意义。从遗传学的角度讲，形成的这套新密码子以及由此产生的多肽，对细胞而言没有任何意义。如果从正确的句子中把字母F删除，新句子为**THE ATC ATA THE ISH AT**。同样这个新句子也是没有任何意义。

例6.6

正常的α珠蛋白有141个氨基酸，其mRNA中最后5个密码子如下：

密码子号码：	138	139	140	141	142
密码子序列：	UCC	AAA	UAC	CGU	UAA
编码氨基酸：	丝氨酸	赖氨酸	酪氨酸	精氨酸	终止

异常α珠蛋白变异体，Hb Wayne 1，具有146个氨基酸，其中138个与正常α珠蛋白分子中的完全相同，而其余的8个氨基酸是不同的。这个突变体的形成是由于密码子139中3位腺嘌呤(A)的删除。

图示如下：

密码子号码：	138	139	140	141	142.....147
正常密码子序列：	UCC	AAA	UAC	CGU	UAA

突变密码子序列：	UCC	AAU	ACC	GUU	AAG……UAA
编码氨基酸：	丝氨酸	天冬酰胺	苏氨酸	缬氨酸	赖氨酸……终止

单碱基删除引起的阅读框转换使142位的终止密码子UAA分裂为两个不同密码子，这就导致了在到达新的终止密码子时，有8个新氨基酸加到了这个多肽链上。

6.11 什么是抑制性突变?

某些抑制性突变可抵消其他不同基因中的突变。另一个类型抑制性突变可位于与它所抑制的突变不同的位置中，然而也可存在于与它所抑制的突变在同一基因中。虽然抑制性突变可导致一个突变表型向野生型"反转"，但是，这个表型反转并不代表一个真正的回复突变，这是由于该野生型和该反转体之间交叉产生的子代仍携带有最初的(不被抑制的)突变。例如，在一个细胞中删除一个碱基所形成的移码突变可导致与氨基酸代谢有关的一个多肽过早的终止合成，致使该细胞反转为一个营养突变体(见问题6.22)。如果随后发生一个碱基的添加(或删除包括终止密码子在内的短序列)，这可使该基因序列恢复正常的阅读框，并合成该多肽。形成的这个多肽也许有一个或多个氨基酸与其天然多肽不同，但是，如果它们并不影响该蛋白质的活性部位，那么，一个野生型的表型将被显现。这第二个突变将抵消第一个突变，使该细胞恢复为原养型(见问题6.22)。

6.12 什么是增变基因?

细胞具有一系列不同的修复系统来减少遗传物质中潜在的致命性突变的数量。这与细胞的所有过程相似，修复机制是通过蛋白质来实现的；所有的蛋白质是由细胞基因组所编码的，因此易发生突变。在编码修复蛋白质的基因中，任何一个发生突变将使基因产物不具有功能，这可导致细胞中突变的速率高于正常情况。这些基因就称为**增变基因**(mutator gene)。

☞ **例6.7**

尿嘧啶-N-糖基化酶缺陷型(*ung*-)大肠杆菌菌株，这些突变体不能修复胞嘧啶的脱氨基作用，因此具有高水平的C→T转换。

突变原因

6.13 物理或化学物质可诱导突变吗?

是的。引起突变的物理和化学物质称为**诱变剂**(mutagen)。诱变剂引起突变可通过：在DNA分子中使一个碱基置换为另一个碱基(如碱基类似物)；使碱基的结构改变并以此导致错配(如烷化剂)；形成插入或删除(如吖啶染料的插入剂)；或严重地损伤碱基使其不能与任何其他正常的碱基配对(如紫外线)。

6.14 碱基类似物如何导致突变?

碱基类似物(base analog)与DNA中正常含氮碱基极为相似，它可在DNA聚合酶的作用下组入正在复制的DNA分子。碱基类似物具有异常的碱基配对特性，它一旦组入就会在后续的DNA复制循环过程中形成突变。5-溴尿嘧啶(5-BU)和2-氨基嘌呤(2-AP)是两个常见的碱基类似物。

☞ **例6.8**

5-BU是胸腺嘧啶的类似物，它可通过DNA聚合酶组入DNA分子中而代替胸腺嘧啶。5-BU分子在其碱基的C-5位置上有一个溴基团而不是胸腺嘧啶中正常的CH_3。该类似物

的烯醇形式(组入后可很快形成的形式)与鸟嘌呤配对而不是与胞嘧啶配对,这将导致转换。

6.15 烷化剂如何引起突变?

烷化剂通过化学性改变正常含氮碱基而引起突变,这些受累碱基可与一个特异的碱基配对而不是正常互补的碱基。

例 6.9

羟胺(HA)引起 GC→AT 的转换。该分子将 OH 基团加到胞嘧啶分子 C-4 位 NH_2 的氮上。所形成的分子(N-4-羟基胞嘧啶)与腺嘌呤配对,导致 GC→AT 的转换突变。

6.16 插入试剂如何引起突变?

插入试剂(intercalating agent)(如原黄素、吖啶黄、溴乙锭)是平面分子,它可使自身插入到 DNA 双螺旋内叠在一起的含氮碱基之间。这些试剂以这样的方式改变 DNA 分子,并导致在复制过程中 DNA 聚合酶插入或跳过一个或多个碱基。这种类型的诱变剂常引起移码突变。

6.17 紫外线如何引起突变?

当**紫外线**(ultraviolet light)被 dsDNA 分子一条链中相邻的嘧啶吸收,它们形成一个环丁烷-嘧啶光二聚体。这些在 DNA 一条链上的二聚体干扰 DNA 复制过程中正常的碱基配对。这对 DNA 复制的影响是非常广泛的,以至正常的复制过程被终止,直到这些二聚体被去除或被绕过。在这种情况下,被称为 **SOS 修复系统**(sos repair system)的修复机制被诱导激活。SOS 系统是一个紧急修复过程可协助绕过由光二聚体形成的"复制阻碍"。这个修复机制尚不完全清楚,但一般认为,SOS 蛋白质与 DNA 聚合酶Ⅲ相互作用,进而降低 DNA 聚合酶严格的特异性。在 SOS 的介导下,陷入困境的 DNA 聚合酶绕过阻塞位置,这是通过随机地组入一个或多个碱基直到该聚合酶通过损伤位置。当这种情况发生,一个不是与正常二聚体化的嘧啶互补的碱基被插入是很有可能的,并且这也导致一个突变。由此,紫外线照射通常导致转换和颠换突变,而移码突变也是可能的,但不常见。

6.18 在 SOS 系统被激活前,UV 损伤的 DNA 能被修复吗?

大多数细菌细胞具有 DNA 修复机制,它可切除 UV 损伤的 DNA 并以未损伤的片段取代切除的片段。图 6-4 说明了这个过程。在同一链中相邻嘧啶对 UV 光线的吸收将引起它们相互作用并形成二聚体。产生的最常见损害是胸腺嘧啶二聚体。胸腺嘧啶二聚体使 DNA 变形,形成突起并抑制聚合酶的活性。该修复系统利用 *uvr*ABC 限制性内切核酸酶,该内切酶可识别 DNA 的变形。这个限制性内切核酸酶结合在变形的任意一侧,切开损伤的 DNA 链。DNA 聚合酶Ⅰ结合在损伤 DNA 5′一侧的切口上,切除损伤的区域并以新 DNA 将其置换。一旦通过聚合酶以新 DNA 将损伤 DNA 置换,DNA 连接酶就立即修复剩余的切口。

突变的检测

6.19 细菌突变如何检测?

细菌突变体可通过观察比较细菌菌株(或分离菌)和野生性型的表型来检测。野生株通常是由自然界分离的菌株。野生型的特征反映了基因的通常的或天然的形式。例如,大肠杆菌的野生株可以生长在含有能量以及只以无机盐和葡萄糖作为碳源的培养基中。它们之所以如此,因为它们具有的生物化学代谢途径可以合成全部所需的氨基酸、维生素和核苷酸。突变株为了自身的生长,需要培养基中提供一个或多个氨基酸。这个表型的变化反映了与氨基酸合成途径有关的基因存在突变。

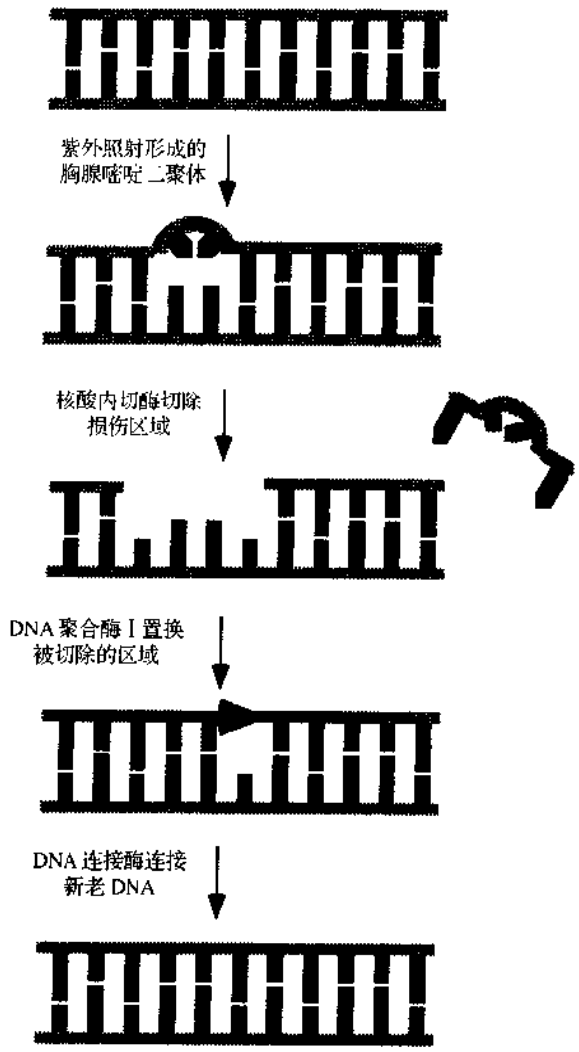


图 6-4 细胞对嘧啶二聚体的修复。当两个嘧啶彼此相邻位于同一 DNA 链中，如果通过吸收紫外线而使其变得不稳定，它们就会相互作用形成一个二聚体。嘧啶二聚体改变 DNA 分子的形状并阻止 DNA 的复制和转录。大多数细菌具有的修复系统可除去这些二聚体并以适当的核苷酸进行取代。这个修复过程涉及通过基因 *uvrABC* 的基因产物切除损伤的 DNA 以及通过 DNA 聚合酶Ⅰ对损伤的 DNA 进行置换。当 DNA 连接酶将新合成的链与旧链连接后修复过程结束。

6.20 细菌可自然发生或被诱导突变。通过细胞分裂，这些突变可从一代传递给另一代。我们所知的突变是来自自然发生和实验室诱导的突变，并且是利用细菌作为实验模型的。细菌的突变是自然发生的？还是暴露于特殊环境的结果，或两者都有？

这个问题（直到 1943 年才得到回答）是理解遗传学的重要的基础。Salvador Luria 和 Max Delbrück 从事大肠杆菌噬菌体的研究工作；他们设计了一个实验——后来被称为**彷徨变异实验**（fluctuation test），该实验提供的证据说明：细菌突变是自然发生的，而不是对特殊环境物质的适应性反应（类似噬菌体）。

6.21 什么是 Luria-Delbrück 彷徨变异实验？

Luria-Delbrück 彷徨变异实验是第一个证明细菌突变自然发生的实验。为了理解这个实验的价值，让我们考察一下在大肠杆菌中所看到的从对噬菌体 T1（在自然界正常存在）的感受

性(敏感性)向一个抵抗状态转变的表型变化。大肠杆菌野生株对噬菌体 T1 敏感;也就是说,由于噬菌体的感染,细菌细胞溶解。然而,群体中的某些细胞可以抵抗感染,被称为噬菌体抗性。这些突变体的形成是由于噬菌体存在于细菌环境中的结果吗?或者是它们已经存在(自然发生)并因为噬菌体作为环境中的一个选择物质而优先增殖吗?以下介绍的彷徨变异实验对这个问题提供了一个答案:

①接种噬菌体 T1 于 10 盘营养琼脂培养皿上,然后,将在营养肉汤储存培养物过夜培养的约 10^9 大肠杆菌细胞**铺盖**(stock culture)在已接种噬菌体的培养皿的表面。将这些培养皿在 35℃孵育过夜。把出现在每个培养皿上的菌落数量记录下来。

②从用于上述培养的同一储存培养物中制备 10 盘大肠杆菌的传代培养物,并将其置于营养肉汤中。在同样的培养条件下孵育过夜。对 10 盘传代培养物,重复上述步骤 1。

③分析统计结果,把储存培养物中存在的突变体数量与每盘传代培养物(共 10 盘)中存在的突变体数量进行比较。彷徨变异实验的结果概括于表 6.1。

表 6.1 典型的彷徨变异实验结果

储存培养物		传代培养物	
盘 号	T1 抗性菌落数量	盘 号	T1 抗性菌落数量
1	23	1	2
2	18	2	7
3	19	3	24
4	25	4	0
5	20	5	43
6	19	6	6
7	23	7	20
8	29	8	0
9	17	9	1
10	16	10	3

表 6.1 所示结果支持突变体自然生成的假说。如果噬菌体抗性细胞来源于暴露于相同浓度的选择物质(噬菌体 T1),那么,所有的培养皿(包括来自储存培养物和传代培养物的接种)都应当呈现同样近似的菌落数量,仅存在抽样误差。另一方面,如果对 T1 抗性的随机突变自然发生的话,在传代培养物之间,噬菌体抗性菌落数量的差异将较宽的波动范围。那些在传代后不久就发生的突变将导致许多抗性菌落,而那些在接种前孵育阶段中较晚发生的突变将形成相当少的抗性菌落。

6.22 什么是营养突变体?

营养突变体(auxotrophic)是那些显现出在野生型中并不显现的一个或多个营养需要的突变体;野生株因此被称为**原养型**(prototrophic)。例如,大肠杆菌的原养型在其生长过程中,在培养基中并不需要色氨酸的存在,因为它们具有完善的功能性生物合成途径来合成色氨酸。导致非活性色氨酸途径酶类合成的色氨酸基因的任何突变将致使营养突变体细菌需要色氨酸。

6.23 什么是影印培养方法?

影印培养方法(图 6-5)是用于检测营养突变体的一个常规技术。这个程序可用于挑选几乎所有类型的营养突变体。设:我们要检测暴露于紫外线照射(一个可提高突变速率的诱变剂)的大肠杆菌细胞群体中需要色氨酸的突变体。为此使用影印培养方法,大肠杆菌群体的大量样品(如 1×10^7 个细胞)被覆盖在补充了色氨酸的葡萄糖-盐培养基的表面,在一个适当的孵育阶段后,可见单个的菌落。该培养皿,称为**主皿**(master plate),将常常含有原养型和色氨酸营养缺陷型。从这个主皿,将克隆精确地复制到两个琼脂培养皿上,一个只有葡萄糖-盐(基

本培养基),而另外一个是补充了色氨酸的葡萄糖-盐培养基(完善培养基)。

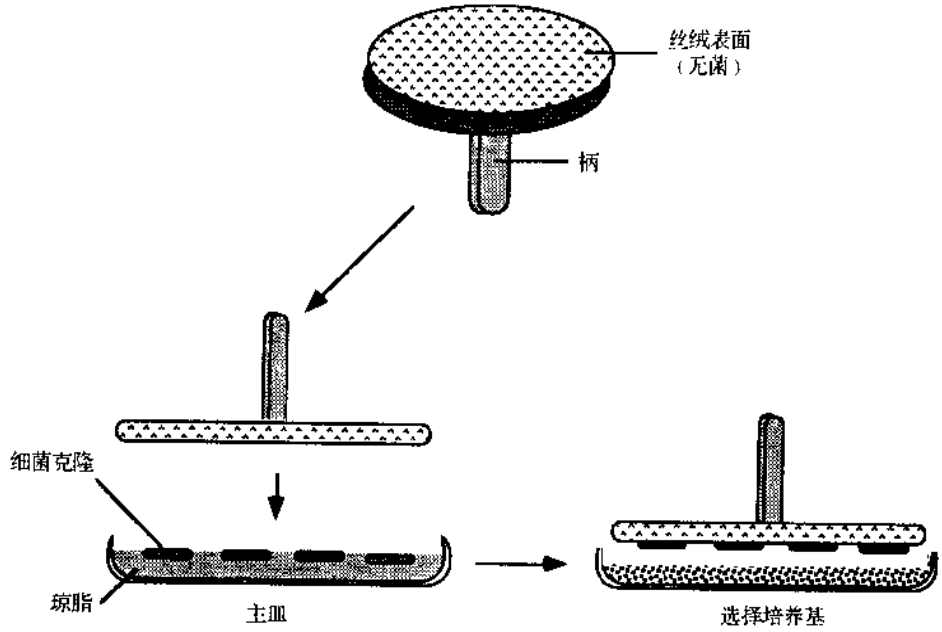


图 6-5　影印培养。影印培养技术可以在混合的微生物群体中对特殊的突变体进行检测和挑选。一个直径略小于 Petri 培养皿内径的涂抹盘上覆盖着无菌的丝绒布。将该涂抹盘轻轻压在含有目的细菌菌落的培养皿表面,由此,丝绒纤维上粘有每个菌落的具有代表性的细胞。然后,将涂抹盘压在选择培养基(该培养基将使带有目的表型的细菌细胞进行生长)的表面。

将覆盖有无菌丝绒布的圆盘压在主皿的表面进行复制,由此,形成的菌落中的某些细胞就被转移到丝绒纤维上。带有主皿印记的丝绒布再压在两个琼脂培养皿(一个是基本培养基而另一个是完善培养基)的表面。在这个过程中,主皿精确的拷贝被转移到两个琼脂培养皿上。在主皿中的营养突变体可在完善培养基上生长,但不能在基本培养基上生长。依据对两个培养皿的检查分析,若菌落在补充培养基中出现而不存在于基本培养基中,该菌落多半是色氨酸营养缺陷型。

6.24　彷徨变异实验的结果只给出统计学的证据来支持这样的结论:至少有一种类型的细菌突变是自然发生的。影印培养方法能提供更多的证据证明同样的结论吗?

使用他们自己发明的影印技术,1952 年 Joshua 和 Esther Lederberg 提供了更直接的支持证据来证明这个结论(基于彷徨变异实验的统计学):突变是自然发生的。生长在琼脂培养皿上的大肠杆菌菌落通过影印培养技术被转移到两个或多个含有培养基和高浓度噬菌体 T1 的培养皿上。过夜孵育后,只有形成 T1 抗性的菌落出现在培养皿上。每个影印皿精确地显示相同几何学位置中菌落的相同数量。如果在任何暴露于噬菌体之前抗性突变存在于主皿上,这些观察是有意义的。

6.25　细菌中的突变可被分为两类:选择突变和非选择突变。什么是选择突变?

选择突变(selectable mutation)是那些可对微生物的生长提供高于野生株的优势的突变。例如,赋予细菌抵抗链霉素(抗生素)的突变是选择突变。为什么?因为当野生型和突变体细胞的混合物生长在含有链霉素的培养基中的时候,只有那些具有抵抗该抗生素的细胞可以生长。因此,在培养环境中链霉素的存在选择了那些可以抵抗链霉素的突变体。你能想起其他的选择突变吗?

6.26 什么是非选择突变?

非选择突变(nonselectable mutation)是那些不能对微生物的生长提供益处的突变。这些突变只有通过肉眼观察或大量细胞的生物化学检测才能被识别。菌落色素沉着中的突变是常见类型的非选择突变。例如,室温生长时,野生型沙雷菌形成红色的菌落。当负责色素生成的基因发生突变后,菌落变成奶油色。由于它们是沙雷菌罕见的突变体,因此它们只能通过对含有大量菌落的培养皿进行大量的检查才能被检测到。

6.27 什么是遗传互补?

遗传互补(genetic complementation)是二倍体或部分二倍体(只有某些倍份的同源染色体而不是整个基因组)细胞中携有两个突变的现象。这两个突变可存在同一 DNA 分子上或不同的 DNA 分子上。如果一个染色体有两个突变位点,而同源染色体上类似的位点是完全正常的(没有突变),那么该突变被认为是在顺位(图 6-6a)。如果两个同源 DNA 分子,每个在不同的位点带有一个突变(或者在同一基因中,或者在不同的基因中),则该突变被认为是在反位(图 6-6b,c)。如果在反位中带有两个突变的二倍体细胞显现一个正常的或接近正常的(野生的)表型,那么就可以说产生了遗传互补现象。

6.28 互补的遗传基础是什么?

当二倍体或部分二倍体细胞带有两个顺位的突变,正常的未损伤的染色体就会产生一个或多个功能性蛋白质,而该功能性蛋白质可使细胞显现正常的或接近正常的(野生的)表型,而且与其他染色体是否带有两个突变无关。两个突变是否存在于编码单一多肽链的同一 DNA 片段中(该片段称为基因或顺反子),或是否它们位于不同的顺反子中,均无关紧要;互补现象将在任一条件下发生。从方法学上,刚才所描述的顺式(cis)条件可为反式(trans)实验建立对照。这个完整的实验被称为**顺-反实验**(cis-trans test)。

如果带有两个反位突变的二倍体或部分二倍体细胞显示为野生的或接近正常的表型,互补现象将再次形成。但是,我们能从顺反实验推断:这两个突变可能位于不同的顺反子中,因为,由一个突变基因形成的有缺陷的蛋白质已经被抵消,或被存在于同源 DNA 分子(染色体)中正常基因产生的功能性蛋白质使之无效。这就像你有两条裤子,这一条在左腿上有一个洞(缺陷),而那一条在右腿上有一个洞(缺陷),如果你把两条裤子都穿上,那么一条裤子上的洞就会被另一条裤子未损伤的裤腿所覆盖。另一方面,如果两个反位的突变不能互补,那么突变的(异常的)表型就会出现。由此我们推断:这两个突变多半是在同一个顺反子中。也不是通过 DNA 分子所有的正常基因来互补同源 DNA 分子上对应片段中的缺陷。

如果互补发生于顺反实验的顺位和反位,我们将不知道由两个不同顺反子形成的多肽是否独立的蛋白质在行使功能(如不同的酶)或它们是否作为同一个杂聚蛋白质的构成部分(例如:含有两个不同链,作为二聚体或四聚体)。例如,在大肠杆菌中,色氨酸合成酶是一个由两条 α 链和两条 β 链聚合而成的四聚体。这个酶在生成色氨酸的生物合成途径中催化一个重要的步骤。在编码 α 链基因中存在两个反位突变的二倍体细胞不能生成这个功能性酶。如果在编码 β 链的基因中存在两个突变,也是如此。任何方式,该细胞均不能合成色氨酸(Trp^- 表型)。但是,如果一个突变存在于编码 α 链的基因中而另一个突变存在于编码 β 链的基因中,那么同源染色体中的功能性基因可以生成一些含有四个正常链的功能性酶,因此,至少可发生部分的互补现象(接近正常的表型可以发育)。正常的和异常的 α 和 β 链可被合成,并且它们能以各种联合方式自然地聚合成杂四聚体,但是色氨酸不可能被细胞合成(Trp^- 表型),除非某些四聚体是由两个正常的 α 和两个正常的 β 链所组成。

6.29 互补作用和重组相同吗?

不相同。重组表示由于染色体的断裂和重新结合所导致的新基因组合的形成。其结果,

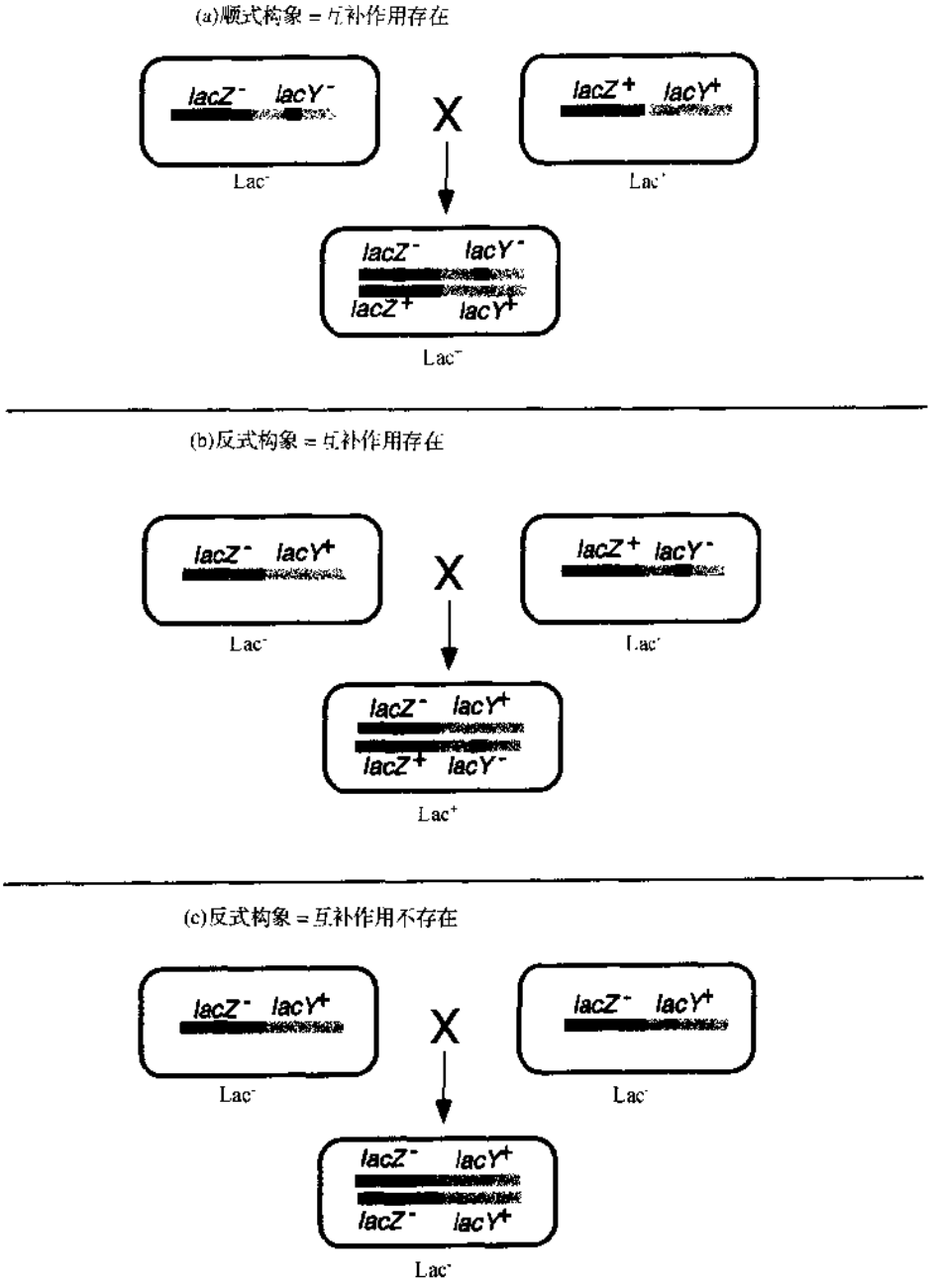


图 6-6　遗传互补。(a)顺式构象。左边的大肠杆菌细胞含有一个突变的 *lacZ*⁻ 基因(黑带),该基因不能形成β-半乳糖苷酶。它也含有一个突变的 *lacY*⁻ 基因(黑带),该基因不能形成转运蛋白质的β-半乳糖苷通透酶。任何一个突变将阻止细胞代谢乳糖(Lac⁻ 表型)。在右边的细胞中,两个等位基因含有正常的基因(*lacZ*⁺ 和 *lacY*⁺),并且该细胞能够代谢乳糖(Lac⁺ 表型)。当它们进行交叉,形成的部分二聚体具有含有两个 *lac* 基因的一个 DNA 分子,并且可以利用乳糖(Lac⁺)。互补已经发生。(b)反式构象。左边的细胞只在生成β-半乳糖苷酶的能力方面是有缺陷的。右边的细胞只在生成β-半乳糖苷通透酶方面是有缺陷的。两个细胞都不能利用乳糖,但原因不同。当它们进行交叉,形成的杂交细胞含有每个基因的一个未突变的拷贝,因此可以利用乳糖。互补已经发生。(c)如果互补没有在杂交细胞中发生,我们应该推论:这两个突变存在于同一个基因中(顺反子)。但是,我们不知道该顺反子是 *lacZ* 还是 *lacY*。

子代表现为不存在于亲代中的新的基因型。另一方面,互补作用并不涉及新基因型的形成,但相反,可形成基因产物的混合。由于互补作用的巨大影响,使其能够通过实验与重组加以区

别。一般认为,所有的杂交细胞显现野生型表型。重组发生的几率相当小,特别是当两个突变紧密的连锁时。

6.30 什么是顺反子?

顺反子(cistron)是基于顺反互补实验所定义的基因。两个存在于同一个顺反子中的突变(顺式构象)不能互补,而两个存在于不同顺反子中的突变可以互补。一般认为,一个正常的顺反子是编码一个完整多肽链的DNA片段。

染色体畸变

6.31 在细胞中可存在两类染色体畸变:染色体结构的改变和染色体数量的改变。染色体结构改变最常见的类型是什么?它们是如何发生的?

常见的染色体结构改变是删除、重复、倒位和易位。**删除**(deletion)是指染色体中一个或多个基因,以及染色体片段的丢失。**重复**(duplication)是指一个指定基因一个或多个拷贝存在于相同或不同的染色体上。两个同源DNA链重叠,在同一时间在两个不同(非同源)位点的断裂,然后与错误的链连接,当这些发生时,删除和重复能存在于同一个突变事件中。一条链将丢失一个或多个基因,而互补链将有一个或多个基因的额外拷贝(图6-7)。**倒位**(inversion)是指一个染色体发生断裂,并且该片段在重新连接之前旋转180°。**易位**(translocation)是指非同源染色体断裂并交换片段。

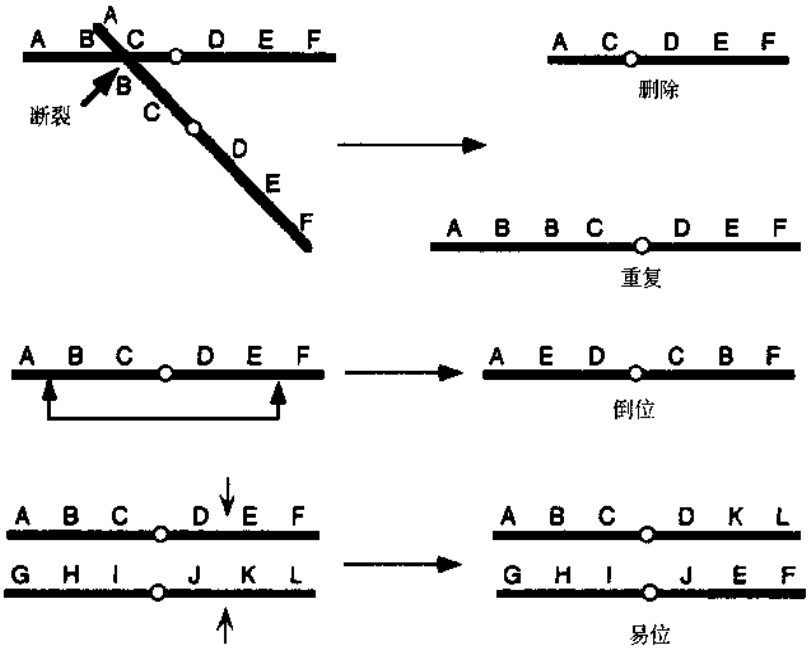


图6-7 导致染色体结构改变的染色体畸变的类型。

6.32 染色体删除引起的突变如何与核苷酸替换相区别?

染色体片段删除引起的突变体不能回复突变,这是由于细胞回复野生型需要染色体全部片段。然而,碱基替换可回复突变至野生型,其恢复的速率是该基因和基因座的特征。

6.33 在二倍体有机体中,主要有两类因染色体数量改变引起的染色体畸变。它们是多倍性和非整倍性。什么是多倍性突变体?

二倍体($2n$)有机体的配子通常含有一套单倍体染色体。一些有机体(如蜜蜂和菌类)。通常在其体细胞中存在着一套单个染色体并且被成为单倍体有机体。然而,由于**单倍体**(hap-

loid)特指配子,因此,术语 **monoploid**[①]应该用于这些体细胞中有一套染色体的有机体。另一方面,人类和大多数真核生物,在其体细胞中具有两套染色体。这些有机体称为二倍体。例如,在人类卵细胞和精子中单倍体染色体的数量是 23,但是在体细胞(如皮肤细胞)中是 46。当细胞获得一套或高于"正常"套数的多套染色体时,它们被称为**多倍性**(polyploid)。常见的多倍性包括**三倍体**(triploid)($3n$)和**四倍体**(tetraploid)($4n$)。与其他所有奇数倍体相同,三倍体难以通过减数分裂形成遗传平衡的配子,因此它们的特征是不能生育。另一方面,如果减数分裂严格地形成遗传平衡的 $2n$ 配子,四倍体是可以生育的。在某些类型的农作物中,四倍体具有额外的优势,可形成更大更多产的植物。

6.34 什么是非整倍性突变体?

在一套同源染色体的单个数量变化形成非整倍性突变体。在减数分裂过程中,同源染色体成对地排列在中期板,继而分离,形成四个单倍体细胞。在减数分裂的过程中,如果减数分裂Ⅰ(或减数分裂Ⅱ中的染色质)中的同源染色体之一不能迁移到对面极区,某个特殊的染色体就会形成不平均的分布。基于减数分裂中形成的这种不分离(nondisjunctin),某些配子将带有一个或多个额外的染色体,而其他配子将带有比完整套数少的染色体。这种现象图示于图 6-8。

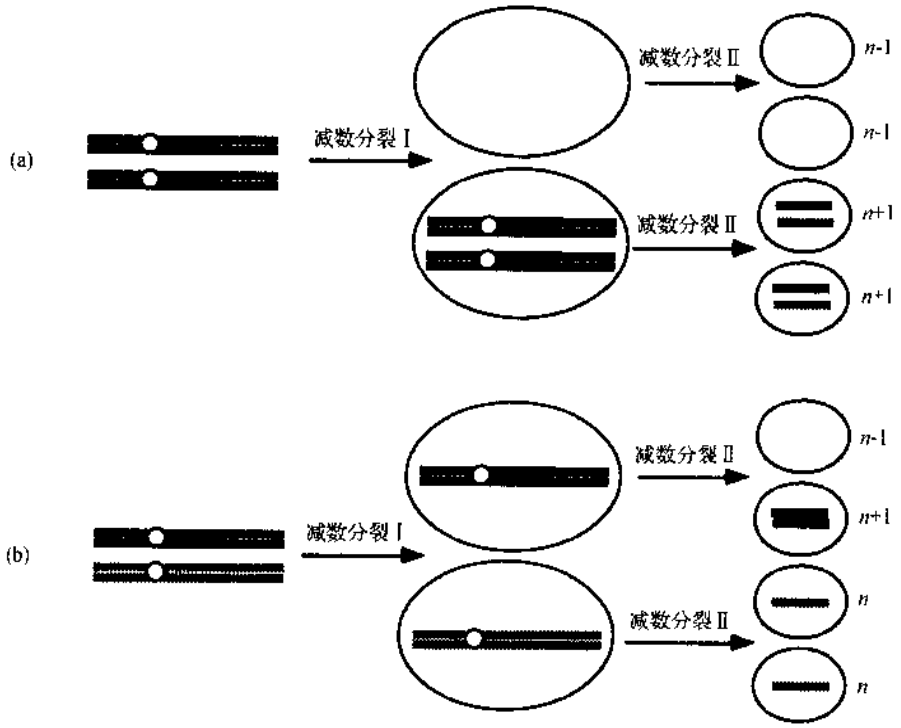


图 6-8 减数分裂过程中非整倍体配子形成的机制。(a)染色体不分离;(b)染色质不分离。

源于某一个染色体 3 个拷贝的非整倍体状态被称为**三体性**(trisomy)($2n+1$)。这种状态就是染色体畸变,基于具体是哪个染色体存在于这三份中,它可导致异常,甚至死亡。

例 6.10

Kleinfelter 综合征是一个三体状态,该类男性患者除了正常的 Y 染色体之外有两条 X 染色体。这些个体通常是可以生育的,并有智力低下以及体形瘦长。

① 中文也译成单倍体。——译者注

☞ **例 6.11**

在人类最常见三体状态是**唐氏综合征**(Down syndrome)。发病率为 3/2000。唐氏综合征起因于 21 染色体的不分离。当一个具有两个拷贝 21 染色体的异常配子被一个正常配子受精形成合子,就成为 21 染色体三体。虽然一定比例的 21 三体胎儿死于出生之前,但是也有许多可以发育生长为成人,然而很少可以生存超过 35～40 岁。唐氏综合征的异常包括智力低下(IQ20～60),身材短小,手短粗且手掌中间有贯通的折痕,舌头大而多褶皱,以及扁平的脸。女性唐氏综合征患者可以生育,并可以有正常(或三体性)后代,但是男性则不能生育。

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 基因的转换形式是(　　)。 (a)互变异构体 (b)[同分]异构体 (c)等位基因 (d)非整倍体 (e)多倍体

2. 突变常源于碱基的替换。碱基替换最常见的原因是(　　)。 (a)互变异构转换 (b)有丝分裂错误 (c)减数分裂错误 (d)碱基插入 (e)碱基删除

3. 亚氨基形式的腺嘌呤的配对是与(　　)。 (a)C (b)G (c)U (d)T (e)A

4. 酮式胸腺嘧啶的配对是与(　　)。 (a)C (b)G (c)U (d)T (e)A

5. 烯醇式鸟嘌呤的配对是与(　　)。 (a)C (b)G (c)U (d)T (e)A

6. 烯醇式胸腺嘧啶的配对是与(　　)。 (a)C (b)G (c)U (d)T (e)A

7. McKees Rocks β-珠蛋白变异体是源于(　　)。 (a)碱基替换 (b)易位 (c)倒位 (d)不分离 (e)移码

8. 导致一个嘌呤与另一个嘌呤替换的互变异构转换被称为(　　)。 (a)颠换 (b)易位 (c)转换 (d)删除 (e)倒位

9. 导致一个嘌呤与一个嘧啶替换的互变异构转换被称为(　　)。 (a)颠换 (b)易位 (c)转换 (d)删除 (e)倒位

10. 当突变导致一个密码子与另一个编码同一氨基酸的密码子置换时,所形成的突变是(　　)。 (a)移码突变 (b)转换突变 (c)颠换突变 (d)删除突变 (e)沉默突变

11. 淋球菌株(通常从罹患淋球菌患者泌尿生殖器分离得到)可氧化葡萄糖,但不氧化乳糖,并且过氧化氢酶和氧化酶阳性。如此特性的菌株被认为是(　　)。 (a)营养缺陷型 (b)原养型 (c)野生型 (d)突变体 (e)无毒性的

12. 影印培养方法可用于检测的细菌菌株显现所有下列表型,除了(　　)。 (a)营养缺陷型 (b)抗生素抗性 (c)病毒抗性 (d)色素形成 (e)鞭毛形成

13. 与顺反子基本意思相同的术语是(　　)。 (a)营养缺陷型 (b)基因 (c)突变体 (d)转化细胞 (e)接合体

14. 源于大肠杆菌两个需丙氨酸突变体杂交的大量杂交二倍体细胞可以合成自身的丙氨酸。这个观察告诉我们:新表型多半可源于(　　)。 (a)回复突变 (b)顺式互补作用 (c)反式互补作用 (d)转导作用 (e)易位单元

15. 下列(　　)化学诱变剂可引起移码突变。 (a)5-溴尿嘧啶 (b)2-氨基嘌呤 (c)吖啶橙 (d)羟胺 (e)过氧化氢酶

16. 下列(　　)化学诱变剂可引起 GC→AT 的转换。 (a)5-溴尿嘧啶 (b)2-氨基嘌呤 (c)吖啶橙 (d)羟胺 (e)亚硝酸

17. 下列(　　)化学诱变剂在组入复制的 DNA 分子后可引起碱基替换。 (a)5-溴尿嘧啶

(b)2-氨基嘌呤 (c)吖啶橙 (d)羟胺 (e)以上多个

18. SOS修复机制由下列(　　)物质激活。 (a)5-溴尿嘧啶 (b)2-氨基嘌呤 (c)吖啶橙 (d)羟胺 (e)嘧啶二聚体

19. 比正常速率高的发生突变的位置是(　　)。 (a)抑制位点 (b)热点 (c)突变位点 (d)顺反子 (e)启动子

20. 染色体断裂并且裂解片段在重新结合前旋转180°所引起染色体畸变是由于(　　)。 (a)插入 (b)删除 (c)倒位 (d)易位 (e)移码

是非题 正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 突变是遗传物质中发生了可继承性的变化,并且其发生特异地源于染色体畸变。

2. 组成核苷酸的碱基中互变异构转换最常见的原因是点突变。

3. 插入和删除经常引起错义突变。

4. 细菌突变体可通过与野生株比较它们的表型而被检测。

5. 营养突变体显示出可抵抗抗微生物物质。

6. 一般来讲,细菌中自然发生的突变是非选择性的。

7. 对抗生素的抗性是选择性突变。

8. 两个突变体通常能够互补,只有当它们相应的突变存在于不同的顺反子中时才不能互补。

9. 细胞中最常见的腺嘌呤的互变异构形式是烯醇式。

10. 基因的另外名字是顺反子。

11. 点突变可导致无义突变。

12. 热点是突变发生概率较高的位置。

13. 移码突变是由碱基替换所引起。

14. 非整倍体和多倍体是常见的染色体畸变。

15. 三体性是描写细胞具有三套染色体的术语。

16. SOS修复机制涉及损伤DNA片段的剪切和置换。

17. 增变基因存在于带有非功能性DNA修复机制的突变体中。

18. 插入试剂主要引起转换和颠换。

19. 观察到的突变速率正常情况下比真实的突变速率要高。

20. DNA聚合酶的校正属性依赖于其5′→3′限制性内切核酸酶的活性。

匹配题 将A栏中每个项目与B栏中的一个项目相配对,使其具有最密切的联系。B栏中任何选择项目只能使用一次。

A 栏	B 栏
1. 颠换	A. 影印培养技术
2. 酮式	B. 营养突变体
3. 原养型	C. 彷徨变异实验
4. 转换	D. 染色体结构变化
5. 无义	E. 三体性
6. 倒位	F. 错误碱基替换
7. 顺反子	G. 高突变速率
8. 错义	H. 嘌呤之间的替换
9. 互变异构体	I. HbS
10. 镰状细胞贫血	J. 等位基因
11. 丝绒	K. 翻译终止
12. 非整倍体	L. 烯醇式

13. 基因的转换形式
14. 自然突变的证据
15. 营养缺陷型
16. 5-溴尿嘧啶
17. 羟胺
18. 嘧啶二聚体
19. 溴乙锭
20. 热点

M. 烷化剂
N. 嘧啶对嘌呤
O. 异构体
P. 营养需求的野生型
Q. 亚氨基型
R. 一个完整的多肽
S. 多倍体
T. SOS 修复
U. 碱基类似物
V. 插入试剂

术语 除非特别指明，每个答案为一个词。

1. 遗传物质中可继承的变化。
2. 用于提供实验证据来支持突变自然发生学说的程序。（两至四个词）
3. 描写不存在于野生型中的营养需求的细菌突变体的一个形容词。
4. 同一个基因的变异形式。
5. 许多突变体源于核苷酸的不稳定。在碱基中氢原子移动到新的位置所引起的构象变化。（两个词）
6. 在基因编码区域添加碱基所形成的突变事件。
7. 由碱基移走所导致的突变实事件。
8. 源于插入和删除的突变类型。
9. 碱基上氢原子从一个位置移到另一个位置所形成的互变异构形式。
10. 胸腺嘧啶和鸟嘌呤通常为互变异构形式。
11. 自然界中胞嘧啶最常见的异构体形式。
12. 由于密码子中碱基的替换导致形成其他编码不同氨基酸插入的密码子，如此引起的突变类型。
13. 导致多肽链提前终止的突变。
14. Joshua Lederberg 和 Esther Lederberg 使用的证明突变自然发生的实验。（两个词）
15. 给予自然界中最常见的菌株（表型）的名字。（两个词）
16. 在同一个基因中在这些位置上发生突变的速率要高于其他位置。（两个词）
17. 导致突变体表型回转为野生型（它们不是回复突变）的突变类型。
18. 定义基因的一个术语，并且它原本是应用于互补作用实验的。
19. 描写染色体删除、重复、倒位和易位的术语。
20. 由于染色体数量变化所导致的染色体畸变的两个主要类型。（两个词）
21. 通过化学修饰正常碱基引起碱基错配的诱变剂。（一至二个词）
22. 引起碱基错配并通过 DNA 聚合酶的作用在合成过程中组入的诱变剂。（两个词）
23. 吖啶橙是这类诱变剂的一个例子。（两个词）
24. 这类基因是非活性 DNA 修复系统的结果。
25. 该修复系统可被紫外线引起损伤的 DNA 所诱导。

答 案

选择题

1. c **2.** a **3.** a **4.** c **5.** d **6.** b **7.** a **8.** c **9.** a **10.** e **11.** c **12.** e **13.** b **14.** c

15. c **16.** d **17.** a **18.** e **19.** b **20.** c

是非题

1. F(也源于碱基替换和其他"点"的改变) **2.** T **3.** F(源于移码突变) **4.** T **5.** F(显示营养需求的突变体) **6.** F(它们是否为选择性依赖于突变的基因的表型和它所执行的功能) **7.** T **8.** T **9.** F(酮式) **10.** T **11.** T **12.** T **13.** F(源于插入或删除) **14.** T **15.** F(术语为三倍体,$2n+1$ 表示三体性) **16.** T **17.** T **18.** F(引起移码突变) **19.** F(较低) **20.** F(3′→5′)

匹配题

1. N **2.** L **3.** P **4.** H **5.** K **6.** D **7.** R **8.** F **9.** O **10.** I **11.** A **12.** E **13.** J **14.** C **15.** B **16.** U **17.** M **18.** T **19.** V **20.** G

术语

1. 突变 **2.** Luria-Delbruck 彷徨变异实验 **3.** 营养缺陷型 **4.** 等位基因 **5.** 互变异构转换 **6.** 插入 **7.** 删除 **8.** 移码 **9.** 互变异构体 **10.** 酮式 **11.** 氨基 **12.** 错义 **13.** 无义 **14.** 影印培养 **15.** 野生型 **16.** 热点 **17.** 抑制性突变 **18.** 顺反子 **19.** 畸变 **20.** 非整倍体,多倍体 **21.** 烷化剂 **22.** 碱基类似物 **23.** 插入试剂 **24.** 增变基因 **25.** SOS

7 细菌及其病毒的遗传学

导　言

任何物种的生存都有赖于其对周围环境所具有的不断的适应能力。这主要由种群基因库的大小和多样性所决定。一个自发突变通过自然选择在整个种群内传播，从而使种群的绝大部分得以更换，携带有益基因的突变细胞可以更广泛地增殖。自发突变使很多细菌进化出拟有性机制，将一个细菌的遗传信息转移到另一个细菌当中，从而增加了它们的基因多样性。这些拟有性机制就是转化、转导和接合。转移的DNA通过重组可以结合到受体染色体中，这些过程使许多不同的基因和等位基因在一个种群内传播，从而增强了那个种群的基因库。

在很多细菌中都能发现细菌病毒，即噬菌体。在某些情况下，它们能够影响细菌寄主的表型和基因型。为了更好地理解细菌遗传学，我们先来熟悉一下细菌病毒及其特性。

噬　菌　体

7.1　什么是噬菌体？

噬菌体(bacteriophage or phage)就是感染细菌的病毒。这些病毒和其他病毒一样是专性胞内寄生物。它们没有蛋白合成机器和能量转变系统，它们仅有一种核酸包裹在一个蛋白外壳或**衣壳**(copsid)中。噬菌体需要一个活的细菌寄主进行复制循环。当噬菌体悬浮液涂布在细菌菌苔(营养琼脂板表面连片生长的细菌层)上时，这些病毒似乎吃掉了部分菌苔，在表面留下了一个个“空洞”(透明区域)。这些透明区域就是噬菌斑，代表了一个病毒群体，其中包含了成千上万个同样的噬菌粒。当一个噬菌体在一个细菌内繁殖，它破坏这个细胞产生几百个病毒子代，继而这些病毒子代又去感染邻近的细菌。当病毒感染也就是细胞裂解循环不断重复下去，最终细胞裂解的数量达到了裸眼就可看到的程度，也就产生了噬菌斑。在液体培养基中，当所有细胞的裂解过程都完成时，混浊的细菌悬浮液将变得透明。

7.2　不是所有的噬菌体都是以同样的方式复制。噬菌体的复制循环可以是裂解的也可以是溶原的。我们先对裂解生命循环进行描述。

裂解(lytic)或**无性生活周期**(vegetative life cycle)最终以宿主细胞的裂解和释放无数病毒子代为结束。仅呈现裂解生活周期的细菌病毒也称**裂性噬菌体**(virulent bacteriophage)或裂解性噬菌体，因为它们不可避免地使宿主细菌死亡和毁灭。T-偶数噬菌体(如T2、T4、T6)就是裂性噬菌体的一个例子。图7-1列举了T4的生活周期。

裂解生活周期共分五步：附着、侵入、合成、装配和释放。周期由噬菌体**附着**(attachment)到细菌细胞壁上的特殊宿主细胞分子(受体)开始。接着，病毒将遗传物质注入到宿主细胞中[**侵入**(penetration)]。在T4中，噬菌体在细菌细胞壁和膜上机械地钻了一个空，通过髓部外鞘的收缩将尾的髓部推入到细胞质中，然后病毒DNA通过噬菌体头部的构象变化注入到细胞中。一旦噬菌体染色体进入到细胞质中，它就会破坏宿主的核酸和蛋白质合成装置，开始启动病毒自己的蛋白质和DNA**合成**(synthesis)装置。当病毒蛋白质被合成时，它们自我装配成病毒的成分如头部(含噬菌体DNA)、尾部和尾部纤维(图7-1e)。**装配**(assembly)过程的

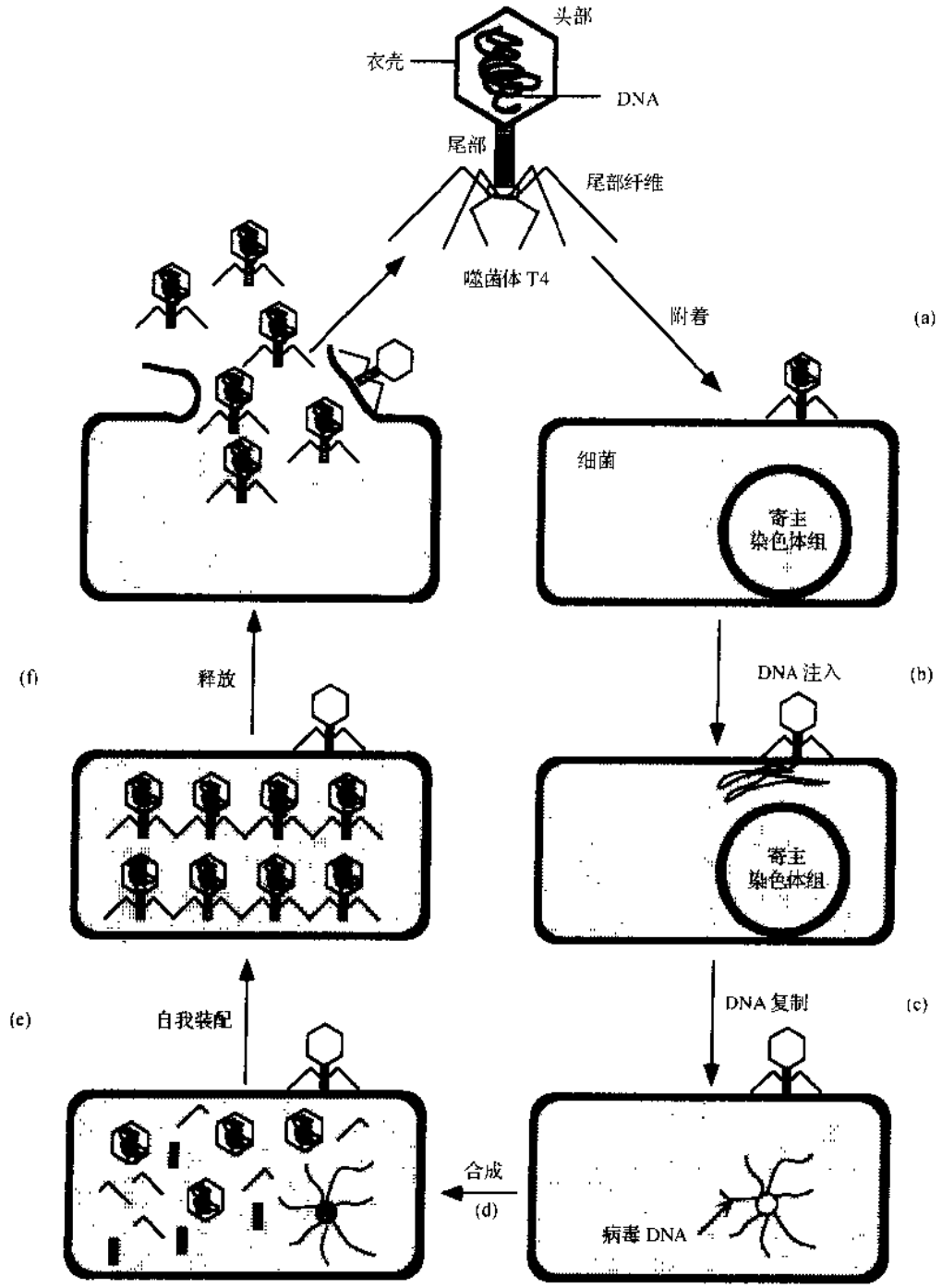


图 7－1　噬菌体 T4 的生活周期。噬菌体 T4 的生活周期从(a)一个病毒粒子附着到一个易感宿主细胞(*E. coli*)上开始。(b)位于病毒头部的 DNA 注入到宿主细胞的细胞质中。早期 T4 蛋白质出现在感染后 2～3 分钟。(c)5 分钟后，宿主 DNA 完全被病毒酶降解。紧接着病毒 DNA 通过滚环机制进行复制。(d)合成病毒的其他成分。(e)10 分钟后开始自我装配。感染后 15～20 分钟在宿主细胞内装配出完整的噬菌体。(f)25 分钟后(37℃)，晚期蛋白质引起细胞的裂解，病毒子代从细胞中释放。每一个释放的传染性粒子又可去感染另一个细胞并开始另一个复制周期。

结果就是无数完整的噬菌体粒子在细胞内形成。装配步骤完成后，病毒蛋白质引起宿主细胞的裂解，所有病毒子代**释放**到环境当中。许多子代又去感染其他邻近的细菌细胞，启动另一轮复制。

7.3　什么是一级生长曲线?

一级生长曲线(one step growth curve,**Ellis - Delbrück 实验**)证实了病毒粒子的生活周期。当裂解性噬菌体的复制被研究和绘制成图(图 7 - 2)后,它似乎是逐级发生的,每一级代表了从一个噬菌体得到的子代。在这个实验中,以一个噬菌体吸附一个细菌的比例将噬菌体和细菌混合。混合物在 37℃孵育,每 5 分钟取样,检测病毒子代的存在。在 T4 感染 *E. coli* 后的第一个 20～25 分钟内没有检测到子代数量的增加。没有检测到新病毒的这段时期称为**潜伏期**(latent period)。在潜伏期后,培养物内的噬菌体数量突然增加 70～250 倍,然后达到平衡。噬菌体数量的增加代表着病毒子代的释放。新子代噬菌体的释放所花费的平均时间称为**裂解期**(bust time),而**裂解量**(bust size)就是每个被感染细胞所释放的子代噬菌体的平均数量。

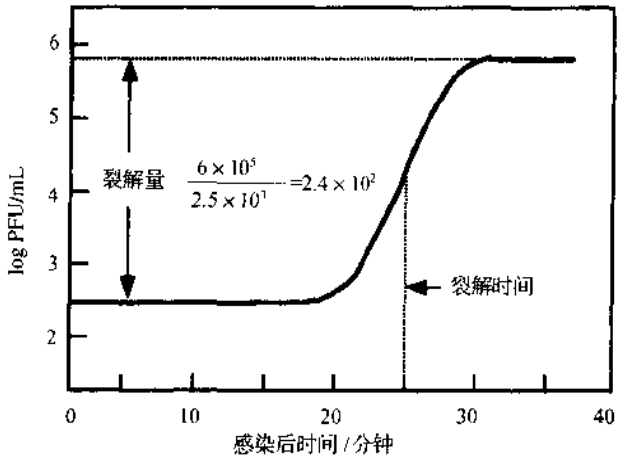


图 7 - 2　T4 噬菌体的一级生长曲线。一级生长曲线反映了裂解性噬菌体的复制过程(正文中解释了不同的步骤)。在一个典型实验中,按照一个细菌细胞刚好被一个噬菌体感染的浓度使噬菌体悬浮液去感染细菌培养液。感染的培养物在 37℃孵育,每隔几分钟取一次样计算那个取样时间内的病毒子代数量。样本培养物涂布在含一个寄主细菌菌苔的含琼脂培养基上。病毒子代以噬斑形成单位(PFU)的数量进行测量。噬斑形成单位代表了那个平板上的病毒菌落数。裂解量表明了每个被感染细胞所释放的病毒子代的平均数量,通过 S 形曲线平台期(感染后 30 分钟)的噬斑形成单位数量除以指数生长开始(感染后 10 分钟)前的噬斑形成单位数量可计算得到。按惯例,裂解时间以 S 形曲线的中点进行测量。

7.4　溶原性噬菌体(λ)生活周期的步骤有哪些?

在**溶原性周期**(lysogenic cycle)(图 7 - 3)中,病毒 DNA 插入到宿主 DNA 内并随着宿主 DNA 的复制而复制。一个溶原性病毒可以在宿主细胞 DNA 的无数个复制当中一直维持这样的状态,直到这些病毒的 DNA 从宿主 DNA 分离出来并开始一个裂解性生活周期。当噬菌体的遗传物质插入到宿主细胞的 DNA 时,也就是所谓的**原噬菌体**(prophage)或称原病毒。

E. coli 的噬菌体 λ 就是一个溶原性病毒的例子。溶原性噬菌体 λ 像噬菌体 T4 一样,利用它的尾部将病毒 DNA 注入到宿主中。一旦病毒 DNA 进入到宿主中,它可以经历一个类似 T4 的裂解性周期,也可以将其并入到宿主 DNA 内。

环状 λ 染色体的整合作用需要噬菌体和细菌的**附着部位**(attachment site)同时存在(图 7 - 4)。细菌的附着部位称为 *attB*,是由三个结构域组成的特殊 DNA 序列:B、O 和 B′。噬菌体的附着部位称为 *attP*,也是由三个结构域组成的:P、O 和 P′。*attB* 和 *attP* 都含有一个**共同的序列**(core sequence):O。同时,结构域 O 也是核心序列。插入事件就发生在那个序列当中。侧翼序列是核心序列的**支臂**(arm),由 B、B′、P 和 P′组成。图 7 - 4 显示了环状噬菌体插入到细菌染色体的过程。当噬菌体 DNA 插入到宿主中,就会形成两个新的附着部位:*attL*(由 BOP′组

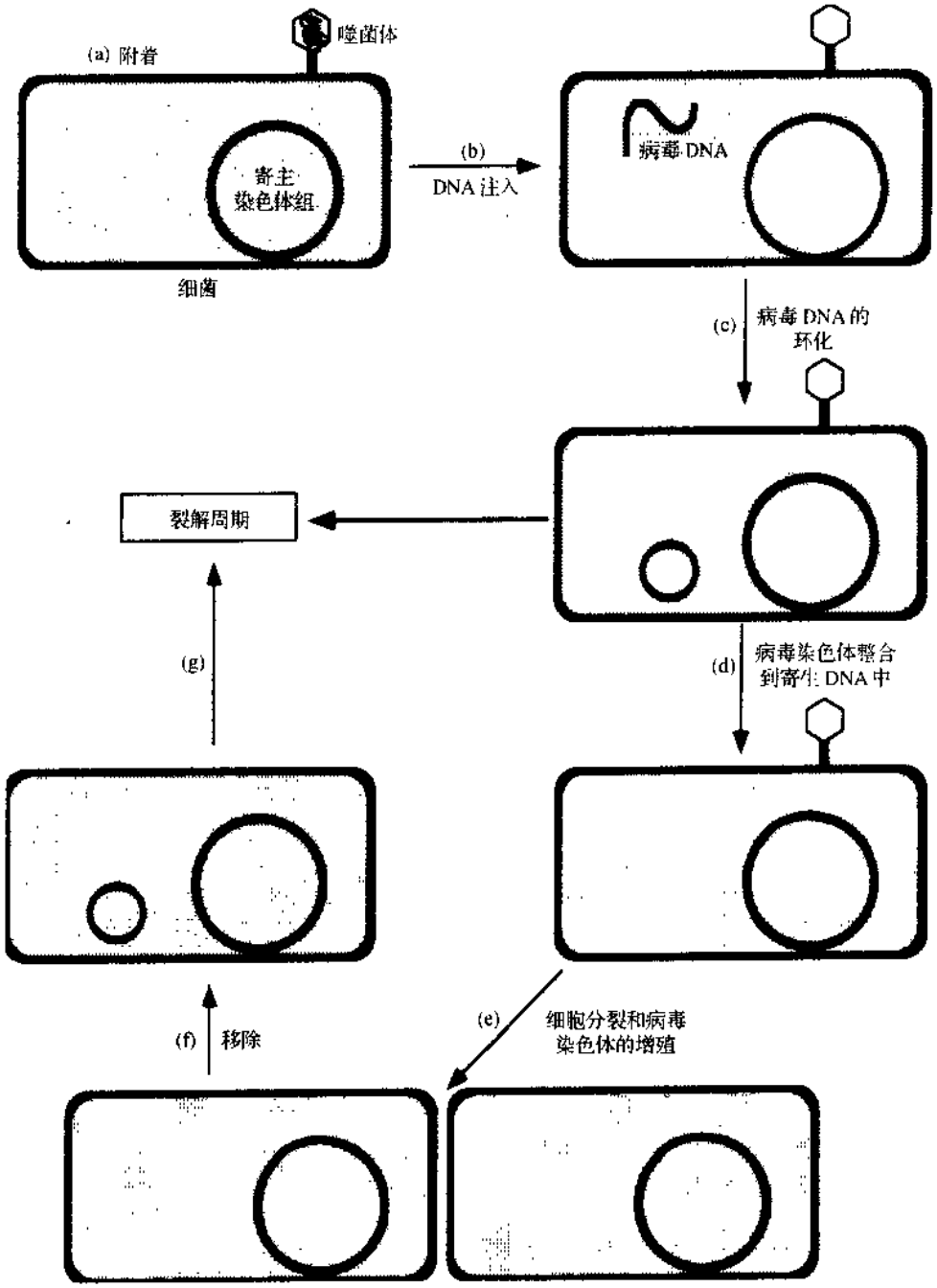


图 7-3　λ噬菌体的溶原生活周期。λ噬菌体经历的溶原生活周期开始于(a)病毒粒子附着(吸附)到易感宿主细胞上。吸附后,线性病毒 DNA 注入(b)到细胞中并开始环化(c)。通过位点专一重组(见图 7-4 和图 7-5),λ噬菌体的环化形式结合(d)到寄主染色体组中,变成原噬菌体。带有一个插入 λ 染色体组拷贝的细菌称为溶原体。在原噬菌体状态,病毒随着细菌细胞分裂而复制(e)。(f)当暴露于紫外线或营养缺乏时,λ噬菌体从细菌染色体组上移除下来,开始类似于图 7-1 所示的裂解周期(g)。

成)和 *attR*(由 POB′组成)。

图 7-5 显示了这两个新附着部位的形成过程。整合(*attB*×*attP*)需要 λ 基因 *int* 和细菌蛋白-整合寄主因子(integration host factor, IHF)的存在。

一旦 λ 基因组整合到细菌染色体组中,就成为原噬菌体。在这个潜伏状态当中,原噬菌体会随着寄主遗传信息的复制而复制。溶原状态由 λ 原噬菌体 DNA 编码的一个**阻抑**(repressor)蛋白维持。λ 阻抑蛋白阻断了所有其他 λ 基因的表达,包括那些和噬菌体复制及噬菌体

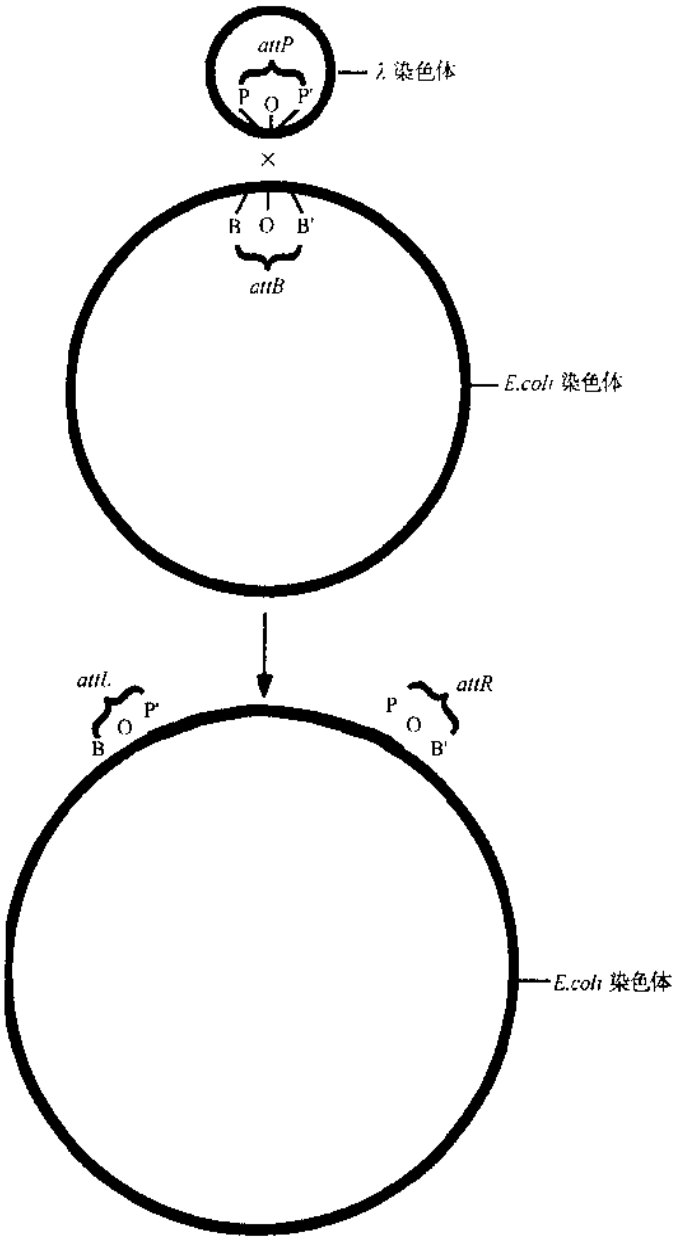


图 7-4　噬菌体 λ 整合到大肠杆菌染色体中。噬菌体 λ 和大肠杆菌染色体上都具有附着位点。这些附着位点通过 λ 整合和移除酶识别。两者的染色体都有一个同源短结构域：O。这个同源结构域侧翼的短 DNA 序列对于每个有机体来说是独特的。大肠杆菌的侧翼结构域用 B 和 B′表示，而噬菌体 λ 的侧翼结构域用 P 和 P′表示。这样，细菌的附着位点用 BOB′表示，而噬菌体的附着位点用 POP′表示。在噬菌体通过位点专一重组整合到大肠杆菌染色体上后，染色体的侧翼为序列 BOP′和 POB′。

蛋白合成有关基因的表达。含有一个原噬菌体的细胞称为**溶原体**(lysogen)。

在某些情况(溶原细胞 DNA 损伤，营养缺乏和紫外线照射)下，λ 阻抑蛋白失活，原噬菌体状态不再维持，移除过程开始。**移除**(excision)也就是噬菌体 DNA 从寄主 DNA 中分离出来，通过噬菌体酶识别 *attL* 和 *attR* 部位，需要 λ 基因 *xis*、*int* 和 IHF。移除的结果就是裂解生活周期的开始(图 7-1)。

7.5　裂性噬菌体能否成为原噬菌体?

不行。裂性噬菌体的定义就是只能经历裂解周期，因此不能将其 DNA 结合到宿主染色

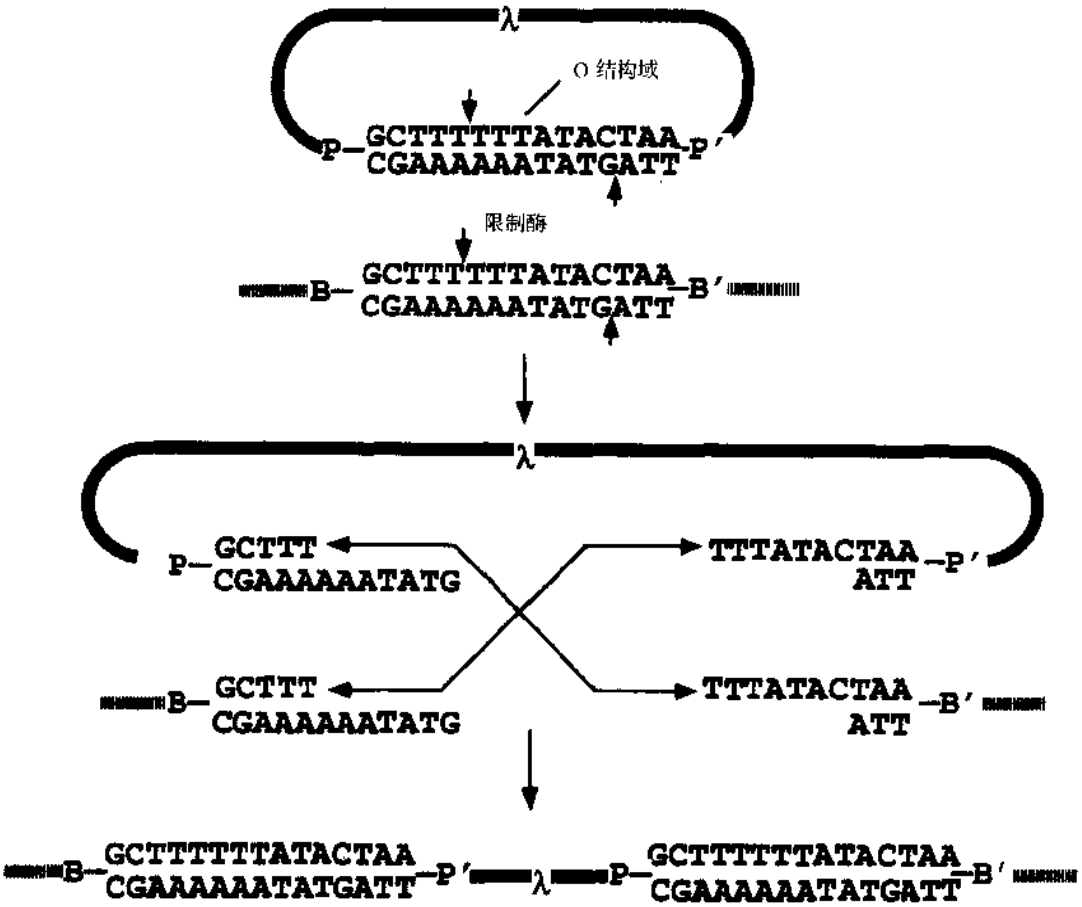


图 7-5 整合的细节是由 *int* 基因产物和 IHF 媒介的。在核心序列(O结构域)*attP* 和 *attB* 位点内的交错切割是由限制性酶引起的。互补的交错末端之间以交叉方式重新组合,导致噬菌体染色体整合到细菌寄主染色体中。将此图显示的序列和结构域取向和图 7-4 的作一个比较。

体中变成一个原噬菌体。另一方面,**温和噬菌体**(temperate phage)却可以以原噬菌体的形式在寄主细菌内存在,允许溶原化的细菌进行一个表面上似乎正常的生活周期。

基因重组和基因转移

7.6 什么是基因重组?

基因重组在细菌内是一个非相互过程,此过程将两个不同来源的遗传物质集合到一个 DNA 分子中。

7.7 是否有一个以上的基因重组形式?

是的。基因重组有两个基本机制,它们是**同源**(homologous)或**非特异性重组**(general recombination)和**位点专一重组**(site-specific recombination)。同源重组在第 3 章已进行了讨论。

7.8 什么是位点专一重组?

位点专一重组涉及多种称为插入序列(IS)、长末端重复序列(LTR)和**附着(*att*)位点**[*att*achment (*att*) site]的特异性位点上两个 DNA 分子的重组。λ 噬菌体整合到大肠杆菌染色体中就是一个涉及 *att* 的位点专一重组的常用例子。

7.9　细菌怎样转移它们的遗传信息?

细菌间的基因转移有三个被识别的机制,就是转化、转导和接合。它们因供体 DNA 来源及转移的媒介和机制的不同而彼此不同。

转化

7.10　什么是转化?

转化(问题 2.17)是细菌间基因转移的一个机制,在这个机制中,供体 DNA 以无细胞 DNA 形式存在于受体细菌直接环境。当细胞死亡和裂解后,DNA 可自然释放到环境中。实验中,已知数量含感兴趣基因的 DNA 被引入环境去转化细菌细胞。一旦游离 DNA 进入细胞,它可通过同源重组整合到受体染色体中。受体细胞经过此过程并最终获得了一个新表型就是所谓的**转化**(transformed)。此现象仅允许相同或相关物种 DNA 的摄入。图 7-6 列举了大肠杆菌的转化过程。

7.11　什么是感受态?

受体细菌摄入游离 DNA 从而被转化的能力就是**感受态**(competence)。感受态是某些菌株可遗传的特性。某些菌株本身就是感受态的,这样的一个种群可随时摄取环境内 DNA,因此转化发生的频率很高。这些细菌(包括肺炎链球菌、枯草芽孢杆菌和流感嗜血杆菌)的线性双链 DNA 进入细胞,其中一条被降解,另外一条通过 RecA 蛋白调节的同源重组整合到染色体中(图 3-10)。

对于细菌的许多其他种类包括大肠杆菌,感受态是指数生长期内一个短暂的生理状态,转化的发生频率很低。二价钙离子可促进这些细菌的感受态水平。

在某些细菌中,感受态伴随着感受态细胞质膜上的双链 DNA 结合蛋白和细胞质中单链 DNA 结合蛋白的产生。这些蛋白质仅存在于某些细菌种类(如大肠杆菌)生活周期的特殊阶段,或是某些种类(如淋病奈瑟氏球菌)内的组成部分。感受态伴随蛋白的功能就是结合环境内 DNA 和保护其不受细胞限制性内切核酸酶的消化。在某些细菌(例如淋病奈瑟氏球菌、流感嗜血杆菌)的染色体中,质膜上一些感受态蛋白质结合的特殊短 DNA 片段(例如 5′-AAGTGGGTCA-3′)是高度重复的。

7.12　多少个基因可同时被转化?

在一个转化事件中,仅有几个通常少于 15 个基因被结合。对于这个现象有几个理由。首先,当供体细胞裂解,DNA 被释放,通常降解为 10^7Da 大小的片段。如果假设一个基因平均有 1000 个核酸对,每个核酸对重为 650Da,那么 10^7Da 大小的片段就大约有 15 个基因。第二,如此大的 DNA 片段能够完整地进入细胞是值得怀疑的,因为细胞壁和细菌质膜对于大分子都有一个透性障。假设细胞在一次转化事件中摄取并结合 3～5 个平均大小的基因则更为合理一些。

转导

7.13　什么是转导?

转导是细菌摄取 DNA 的一个机制,其中供体 DNA 由细菌染色体片段组成并通过细菌病毒(噬菌体)载体引入受体细胞中。在这个过程里,寄主细胞可获得新的遗传信息。

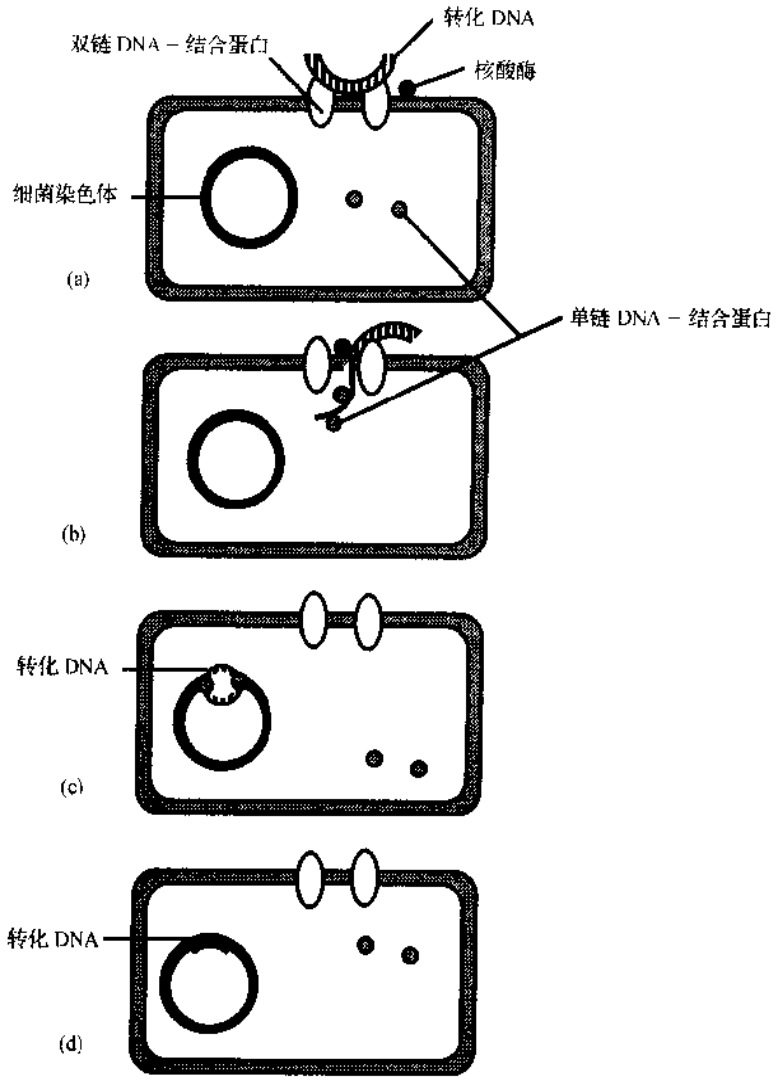


图 7－6　细菌内 DNA 转移的转化机制。(a)双链 DNA 附着到膜被双链 DNA 结合蛋白上。(b)转化 DNA 双链中的一条进入细胞，另外一条被核酸酶降解。(c)细胞内的单链 DNA 和单链 DNA 结合蛋白结合。在此过程，通过同源重组转化 DNA 结合到细菌染色体上。DNA 多聚酶使整合的单链 DNA 转变成双链 DNA。(d)转化细胞染色体上具有转化 DNA 片段。

7.14　转导机制有两种不同的形式，即普遍性转导和特异性(局限)转导。什么是普遍性转导?

在**普遍性转导**(generalized transduction)中，基本上任何细菌基因都可被转移(图 7－7)。基因转移以烈性或裂解性噬菌体作为媒介。裂解性噬菌体感染寄主细菌细胞，破坏寄主 DNA 并最终裂解细胞，释放无数病毒子代。病毒 DNA 没有被降解是因为噬菌体染色体的部分碱基被修饰以至于病毒酶(见下一章限制酶部分)不能识别。接着，病毒 DNA 被复制，病毒蛋白质被合成。新复制包裹在衣壳蛋白质中，然后装配成具有感染性的病毒粒子(图 7－1)。当病毒完全装配好后，病毒酶降解细胞外膜，裂解细胞并释放病毒子代。

偶尔，部分寄主 DNA 会随着不完整的病毒染色体一起包裹到病毒里。此时，就会形成一个普遍性转导噬菌体，尽管它也具有感染性，但它不能进行复制和裂解寄主细胞。由于病毒头部的限制，容纳了细菌基因就不得不放弃部分噬菌体基因。这些缺损性转导噬菌体作为媒介将寄主 DNA(在病毒装配时被结合)从一个细胞转移到另一个细胞。因为寄主 DNA 包裹到病毒粒子中是随机的，任何细菌基因都具有同等的机会被包裹和转移到受体细胞中。当转导

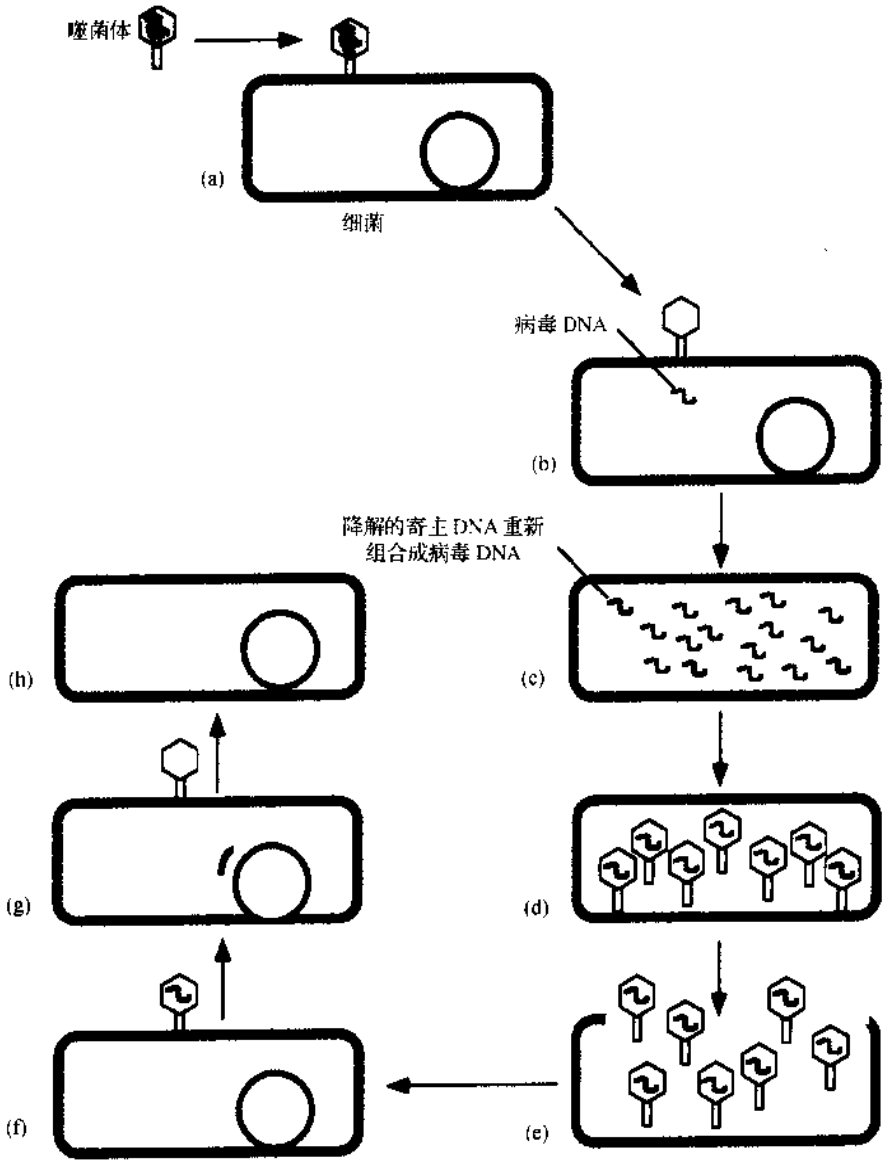


图 7-7　普遍性转导。普遍性转导噬菌体如 T4 入侵细菌:吸附到细胞壁上(a)并将其遗传物质注入到细胞中(b);感染后不久,寄主 DNA 被降解成小的片段(c);在病毒装配过程(d)中,部分病毒粒子摄取了一些寄主 DNA 的小片段(转导 DNA)。细胞裂解(e)后,这些病毒粒子又可感染其他细菌细胞(f)并注入含转导 DNA 的染色体(g)。转导 DNA 的同源部分可以通过同源重组结合到寄主 DNA 上(h),向寄主染色体传递一个或几个新基因。

噬菌体感染细菌寄主细胞时,转导 DNA 引入寄主细胞质中并通过同源重组结合到细菌染色体上。被感染细胞不被破坏,因为转导噬菌体是缺损性的,它不具有完整的基因。

7.15　通过普遍性转导的重组频率有多少?

任何基因的重组频率都是相当低的。任一基因转移并结合到寄主细胞的可能性范围在 1×10^{-6} 和 1×10^{-8} 之间。通常一次转导仅有几个(<5)基因被转移。

7.16　什么是特异性转导?

特异性或局限转导(specialized or restricted transduction)是溶原性噬菌体以高频转移一个特定基因的过程。当溶原性噬菌体感染寄主细胞,它们的 DNA 通过位点专一重组结合到寄主染色体中。经过诱导过程,原噬菌体染色体从寄主染色体上移除下来并经历一个裂解生

活周期，导致寄主细胞的裂解和许多噬菌体粒子的释放。当λ阻抑物蛋白失活不再抑制将原噬菌体从寄主染色体上移除下来和噬菌体生活周期有关酶的合成时，诱导发生。溶原性细胞暴露于紫外线或转移到缺乏一种或几种氨基酸的培养基可启动诱导过程。

溶原性噬菌体的位点专一重组总是发生在一个特定位置并邻近于某些基因。例如，溶原性噬菌体λ结合到大肠杆菌染色体的 *gal*（半乳糖代谢）和 *bio*（生物素合成）基因之间。偶尔，从寄主染色体上移除下来的噬菌体是缺损性的，导致释放的λ染色体含部分寄主染色体，特别是那些邻近噬菌体插入位点的基因（*gal* 或 *bio*）。在噬菌体λ的特殊例子中，伴随λ染色体的绝大多数是 *gal* 基因。因为由此得到的转导噬菌体缺少它的部分基因，它只能将 DNA 转移到另一个寄主细胞，而不能经历复制周期，除非此细胞也含有一个野生型噬菌体。转导 DNA 通过位点专一重组结合到寄主染色体的 *gal*（或 *bio*）基因座附近。

接合

7.17 什么是接合？

在**接合**（conjugation）过程中，遗传信息通过细胞间的细胞质通道，单向地从一个供体（“雄性”）细菌转移到一个受体（“雌性”）细菌中。供体和受体之间所需的细胞间的接触可通过肠细菌（例如大肠杆菌和沙门氏菌）中的性丝（例如 F 菌毛）获得，或通过某些革兰氏阳性菌（例如粪肠球菌）的凝集素（促进细胞凝块的物质）和信息素（个体产生的用来改变同种类其他成员行为的化学物质）获得。

7.18 接合过程中多少个基因可被转移？

在接合过程中，整个质粒有时有 50 个或者更多的基因，并且细菌染色体的大部分可被转移。理论上，全部细菌染色体在接合过程中都可被转移，但实际上这种情况很少发生，因为细胞质通道在转移完成前通常就会切断。

7.19 供体细菌是否有不同的类型？

是的，至少有三种不同的供体细菌类型，它们是 F^+、F' 和 **Hfr** 细菌。这三种细菌都具有性菌毛，转导过程中性菌毛成为供体细菌和受体细菌间的细胞质桥。受体细菌缺乏性菌毛，用 F^- 表示。

7.20 什么是质粒？

质粒（plasmid）（见问题 1.6）和主要染色体比较，相对较小且是具有自主性的遗传物质。在细菌中，这些环状 DNA 分子含有 10～100 个基因。它们的大小差别很大，长度从 2500 个碱基对到超过 80 000 个碱基对。质粒复制通常独立于染色体复制。根据质粒类型的不同，每个细菌中的此质粒数量可以是 2～250 个拷贝。一般情况下，大多数质粒基因和自身复制调控有关，但也有些质粒在细胞中有一个或多个功能（表 7.1）。一个质粒的功能常常是未知的，这样的质粒称为**隐蔽性质粒**。质粒所包含的遗传信息对于细胞功能通常不是必需的。然而，质粒基因使细胞在某些情况（例如抗生素的存在）下，比缺乏这种质粒的细胞在存活上更为有利。

表 7.1 细菌质粒基因的某些功能

促进遗传物质从一个到另一个细胞间的转移
提供抗微生物剂抗性（例如青霉素和链霉素）
提供重金属抗性（例如水银、铅和砷）
产生某些毒素（例如凝固酶、溶血素和肠毒素）
异分的同化作用和代谢（例如乳糖、固氮作用和尿素）
在植物内诱发肿块（例如根瘤和根癌）
毒性有机物质的降解（例如樟脑、辛烷和萘）
产生色素
产生称为大肠菌素的抗微生物物质（B、I、V、E1、E2、E3、D、K）

7.21　什么是 F^+ 细菌?

F^+ 细菌在接合过程中只提供质粒基因。这些细菌具有致育因子(F 因子)使得它们能够发生接合,因此用符号 F 表示。我们现在知道,致育因子就是一类称为**接合质粒**(conjugative plasmid)的质粒。它携带了编码用来合成性菌毛(见问题 1.10)即 F 菌毛的菌毛蛋白和促进质粒 DNA 从供体到受体转移的蛋白质遗传信息。F 细胞缺乏 F 因子,因此其不具基柱。然而,这些 F 细菌在和 F^- 细菌接合后转变成 F',原因将在下一个问题讨论。

大肠杆菌的 F 因子(质粒)是一个环状双链 DNA 分子。它有 94.5kb,在细胞质中能指导其自身复制(自主的)。

7.22　质粒在接合过程中怎样进行转移?

F^+ 和 F^- 细菌接合的第一步是两个细胞通过 F^+ 细胞的性菌毛进行吸附。然后性菌毛收缩,促使两个细胞密切接触。两个质粒编码蛋白质(TraY 和 TraZ)在复制起点(*oriT*)切断质粒。接着质粒 DNA 根据第 3 章已解释过的滚环机制进行复制。仅有一条质粒 DNA 链在**先导蛋白**(pilot protein)的协助下经过细胞质桥从供体细胞转移到受体细胞中。供体细胞和受体细胞都合成一条与单链 F 质粒互补的 DNA 链,形成双链 F 质粒。接合完成时,接合后体细胞分离。因此每个细胞都至少有质粒的一个拷贝,它们都是 F^+ 细胞。

7.23　什么是 Hfr 菌株?

Hfr 菌株对于某些染色体基因显示出了高的重组率,因而得名。我们现在知道这种接合过程中的高转移率是由于接合(F)质粒结合到细菌染色体中。遗传因子(像质粒 F 和 λ 噬菌体)可以以自主复制实体形式存在,也可以以称为**附加体**(episome)的染色体实体的形式存在。

7.24　F 质粒是怎样插入到细菌染色体中的?

F 质粒通过位点专一重组插入到细菌染色体中(图 7-9)。重组发生的区域或位点称为**插入序列**(insertion sequence IS),它由接合的质粒和染色体间的同源 DNA 序列组成。这些 IS 位点在整个大肠杆菌染色体中分在八个不同的位置上,这样 F 质粒就可整合到细胞染色体的任一这些位点上。重组频率和转移的基因顺序依赖于 F 质粒在染色体中的定向和插入位点。

7.25　染色体基因怎样通过 Hfr 菌株进行转移?

Hfr 菌株和 F^- 菌株间的 DNA 转移过程本质上同 F^+ 菌株和 F^- 菌株间的 DNA 转移过程是相同的。然而也有一个显著的区别。受体 F^- 细菌和 F^+ 菌株接合后总是会变成 F',但 F^- 细菌和 Hfr 菌株接合后很少变成 F^+。这是因为在 Hfr 菌株和 F^- 菌株接合过程中,直到所有染色体基因都被转移时,所有必需的质粒基因才会被转移(有些质粒基因在转移的染色体末端)。在整个染色体被转移时,接合体间的接合桥始终都没有被打断的情况是极少发生的。因为很少有整个染色体都被转移,也就有一些 F 质粒基因(例如性菌毛基因)同样很少被转移。

7.26　我们能否利用 Hfr 菌株绘制染色体基因位置?

不同 Hfr 菌株和 F^- 菌株间的接合可用来绘制细菌染色体基因的相对位置。离转移起点更近的基因比远离转移起点的基因有更高的转移频率,绘制过程就是基于这一事实。在一个典型绘制实验中,每毫升有 1×10^7 个原养型的野生型 Hfr 菌株(对链霉素敏感,Str^s)细胞和每毫升有 1×10^8 个大肠杆菌的多重营养型 F^- 突变型(F^-、Thr^-、Lac^-、Gal^-、His^-、Str^r)细胞混合。在混合后的特殊时间间隔内,样品用搅拌器猛烈搅动将交配个体分开。然后样品涂布在含不同化学合成培养基(包括链霉素)的平板上,培养基要么缺乏一种必需氨基酸(苏氨酸、组氨酸),要么以半乳糖或乳糖作为惟一糖类来源。在培育期后,计算培养基上的菌落数。

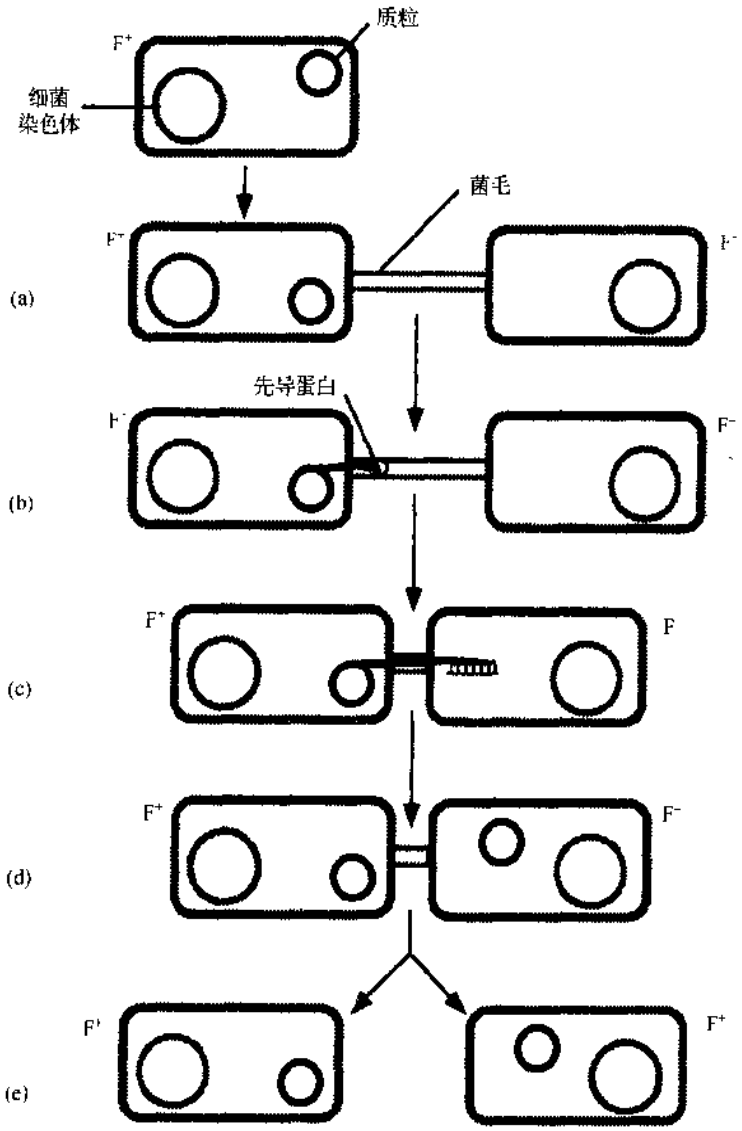


图 7-8 细菌接合。在接合过程中，F′ 细菌（含 F⁻ 质粒）具有基柱并通过菌毛吸附到 F 细菌上(a)。在先导蛋白（微球体）的协助下，菌毛提供了一个可供质粒 DNA 转移(b)的细胞质通道。质粒 DNA 通过滚环复制过程进行复制。在此过程中，一个 DNA 单链分子通过菌毛转移到 F⁻ 细菌内。当 DNA 转移发生时，两个细胞由于菌毛的收缩(c)而靠得更紧。最后，寄主 DNA 利用从 F⁺ 细菌转移过来的单链 DNA 作为模板合成一条互补链。在复制周期(d)结束时，所有细胞都是 F⁺，因为每个细胞都含有 F 质粒的一个拷贝。当两个接合体分开时接合过程结束(e)。

平板上的菌落是重组体。因为供体细菌可以转移它们的基因却对链霉素敏感，所以不能生长（野生型大肠杆菌对链霉素敏感）。受体细菌需要两种氨基酸且不能分解代谢半乳糖或乳糖。在不同时间间隔后的不同重组体的频率显示出了基因位于染色体上的顺序。因为 DNA 从供体到受体的转移率是相当稳定的，原养型标记（基因）出现的时间是那些标记间距离的一个指示。

7.27 什么是 F′（显著 F 原型）菌株？

F′菌株（F′ strain）是具有一个含一个或更多染色体基因的 F 质粒的细菌。这些细菌菌株很容易被识别，因为它们在接合过程中转移的染色体基因就是那些结合到 F 质粒上的基因和能够给予受体细胞形成 F 菌毛能力的 F 质粒基因。

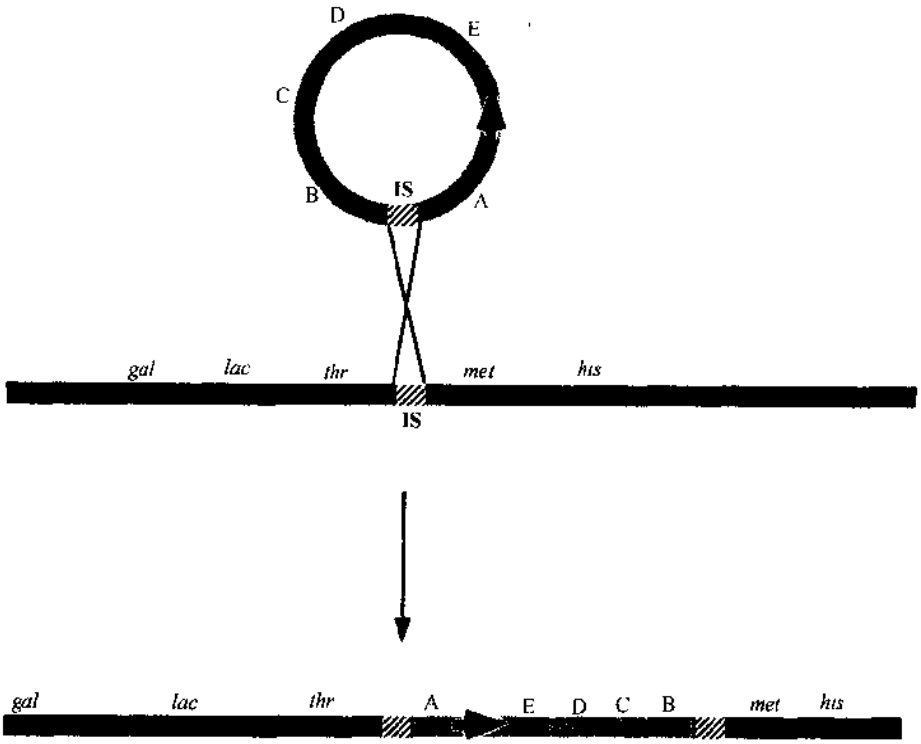


图 7-9　F 质粒插入到细菌染色体中。大写字母表示任意质粒基因，斜体的缩写词表示染色体基因。粗箭头显示了转移的方向。IS 表示同源插入序列。在 Hfr 和 F⁻ 细菌的接合过程中，染色体基因的转移早于绝大多数质粒基因。

7.28　F′菌株怎样形成的?

F 质粒可以以整合形式或游离状态存在于一个种群的细胞内。正如以前我们所讨论的，整合过程通过位点专一重组进行。在个别情况下，整合的 F 质粒从染色体上异常移除(反整合作用)下来(图 7-10)。当移除不完全，移除的质粒带有部分染色体基因时，得到的细胞就称为 F′菌株。这些细胞以非常高的频率转移移除的染色体基因。此基因转移过程称为**F 因子转导**或称**性转导**(F-duction or sexduction)。转移的基因不需要整合到受体染色体中被表达，因为 F′质粒仍有其自主性，包括独立的复制，因此可以表达它的全部基因。这些染色体基因在质粒中具有等位基因，因而 F′细胞是一个不完全的二倍体。

转座因子

7.29　什么是转座因子?

有一些长度为 700～20 000 个碱基对大小的 DNA 片段从染色体的一个区域跳到另一个区域。无论是原核生物还是真核生物，跳跃可以发生在从染色体的一个位置到另外一些或另一个位置，在细菌中则可从染色体到质粒或从质粒到染色体。这些跳跃基因就是**转座因子**或称**转座子**(transposable element or transposon)。当转座因子从一个位置移到另一个基因的控制区时，它们就可和那个基因的打开和关闭有关，因此转座因子是十分重要的。另外，因为转座因子可以插入到染色体组的不同位置，如果它们整合到一个基因中就可引起突变。

在许多不同生物中都可发现转座因子，包括细菌、真菌、原生动物和植物，很可能在所有类型细胞内。至少有三种类型的转座因子：插入序列、复合转座子和反转录转座子。

7.30　什么是插入序列?

插入序列(insertion sequence)是一种仅带有转座所需基因的转座因子(图 7-11)。在转

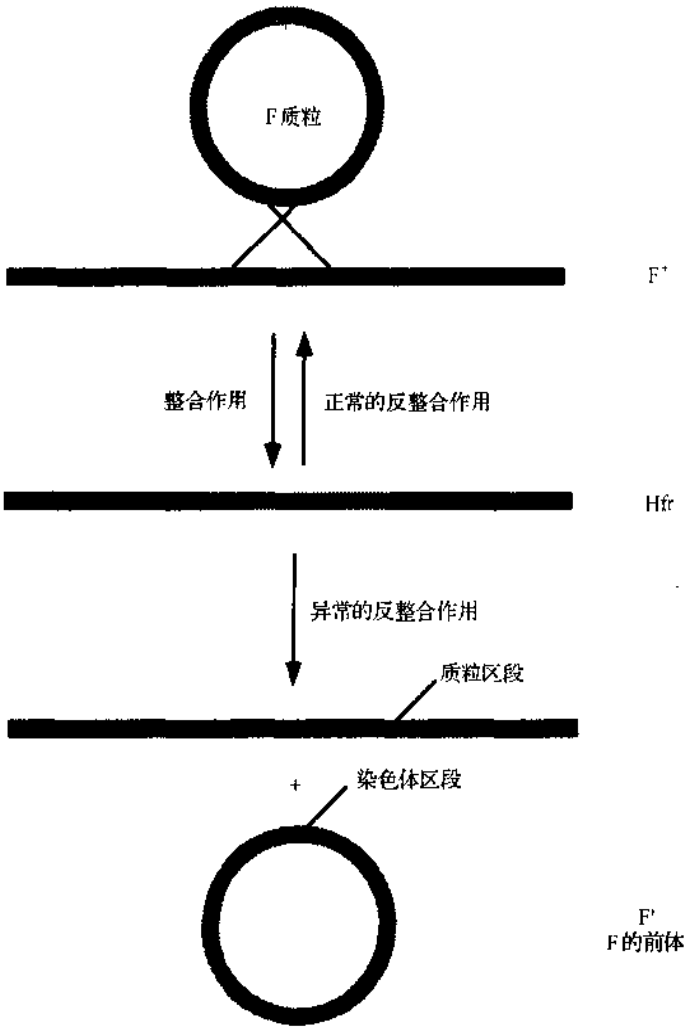


图 7-10　F′菌株的形成。当出现异常的反整合作用或 F 质粒从 Hfr 上移除下来时，F′菌株形成。在移除过程中，一个染色体基因仍旧附着在 F 质粒上成为 F 质粒的一部分。最后的结果就是质粒携带了额外可以表达的遗传信息。

座过程中，**转座酶**(trans posase)可以识别其反向重复序列，切割并连接 DNA。插入序列从染色体或从质粒上移除下来还需要**解离酶**(resolvase)。插入序列的大小从 700～5000 个碱基对不等。它们是最简单的转座组件，并且是细菌染色体和质粒的正常成分。插入序列用 IS 表示，前缀 IS 后的数字则确定了此插入序列的类型。当位点专一重组发生在染色体和 F 质粒的插入序列上时，大肠杆菌的 Hfr 菌株形成。称为**末端反向重复**(inverted terminal repeat，IR)的 DNA 短区域在每个 IS 的末尾。紧接着每个 IR 的是作为转座因子插入位点的**同向(靶)重复**[direct (target) repeat]的相同核苷酸序列。同向重复之所以这样命名是因为两个重复的序列以相同的方向重复。

7.31　什么是复合转座子?

复合转座子(complex trans poson)除了转座需要的基因外还有一个或更多的基因。复合转座子的大小范围在 2000～20 000 个碱基对之间，其边缘部分是相同的或密切相关的同向或反向的插入序列(图7-12)。复合转座子通过 DNA 复制合成其复制物。当一个复制物本身从一个位置易位到另一个位置，它就将原始转座子抛在了后面。复合转座子常常携带一些基因使细胞对抗生素、重金属或肠毒素产生抗性，但任何细胞基因也都可能在插入序列之间找到。

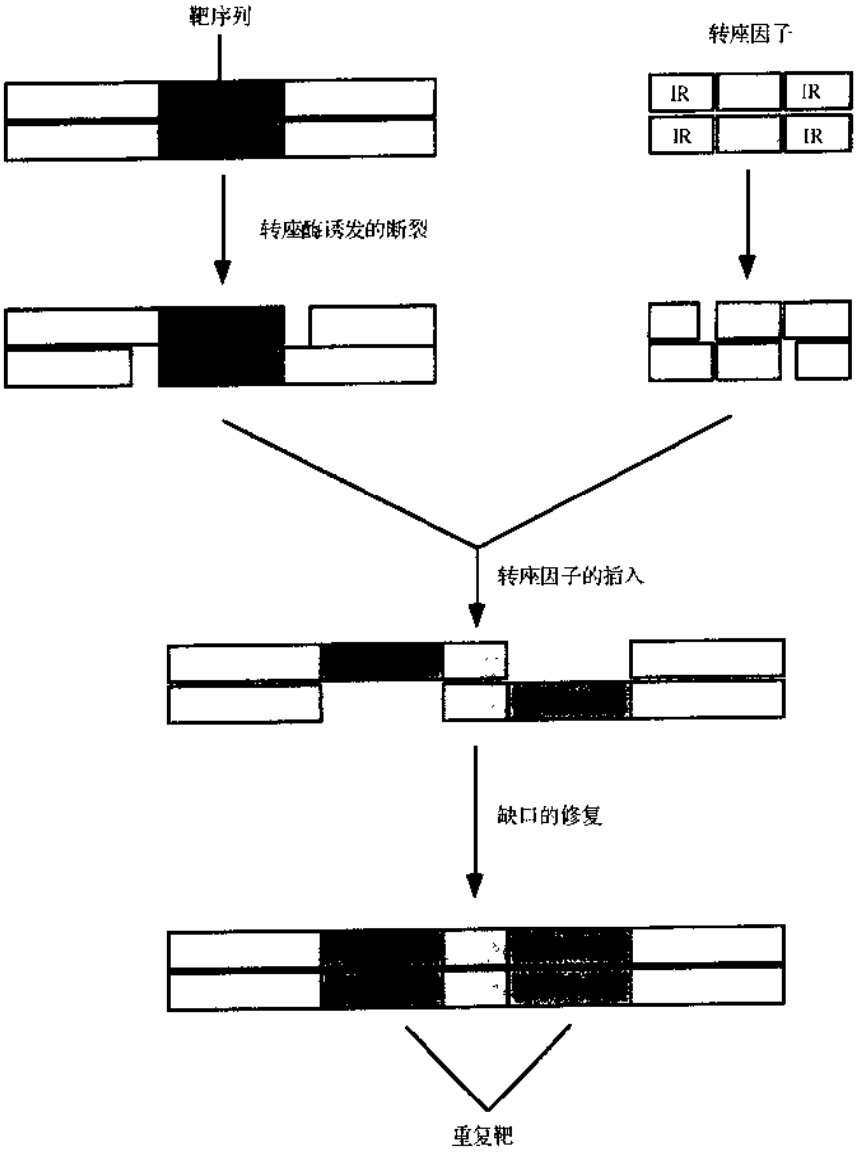


图 7－11　转座过程。转座子编码的转座酶引起转座子本身和细菌染色体上靶序列邻近位置的断裂。转座子通过位点专一重组插入到细菌染色体中。转座子插入到细菌染色体中所产生的缺口由酶进行修复。修复过程将靶序列进行复制。

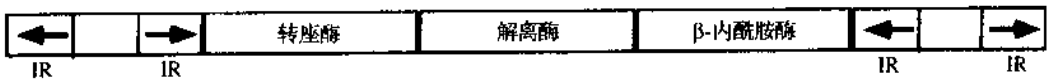


图 7－12　一个复合转座子。复合转座子是大的转座因子，长度为 2000～20 000 个碱基对。复合转座子的侧翼是保持相对反向重复(箭头表示)的插入序列。另外，他们带有转座酶和解离酶，使得转座因子能够自我复制并将复制物插入染色体的其他区域或插入到质粒中。一些复合转座子还具有能对一个或更多抗生素产生抗性的基因。图中显示编码 β-内酰胺酶的基因。

7.32　什么是反转录转座子?

反转录转座子(retrotransposon)(反转录子)的长度有成千上万个碱基对，它的边缘部分也是插入序列。反转录转座子以带有**反转录酶**(reverse transcriptase)和**整合酶**(integrase)基因为特征。反转录转座子通过原始转座子 DNA 的 RNA 转录物合成其复制物。这样一来，原始反转录转座子被保存而 DNA 的复制物则完全是新的。因为重组将 DNA 复制物置于新的

位置上，看起来就似乎是反转录转座子在染色体内或质粒内或它们之间从一个位置跳到另一个位置上。最好理解的反转录子就是反转录病毒（如伴随 AIDS 的人免疫缺陷病毒）。

表 7.2 复合转座子的代表物

转座子	生 物	长 度/bp	IS 及其数字	抗 性
Tn5	金黄色葡萄球菌	5700	IS50	卡那霉素
Tn9	大肠杆菌	2500	IS1	氯霉素
Tn10	大肠杆菌	9300	IS10	四环素
Tn903	大肠杆菌	3100	IS903	卡那霉素

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

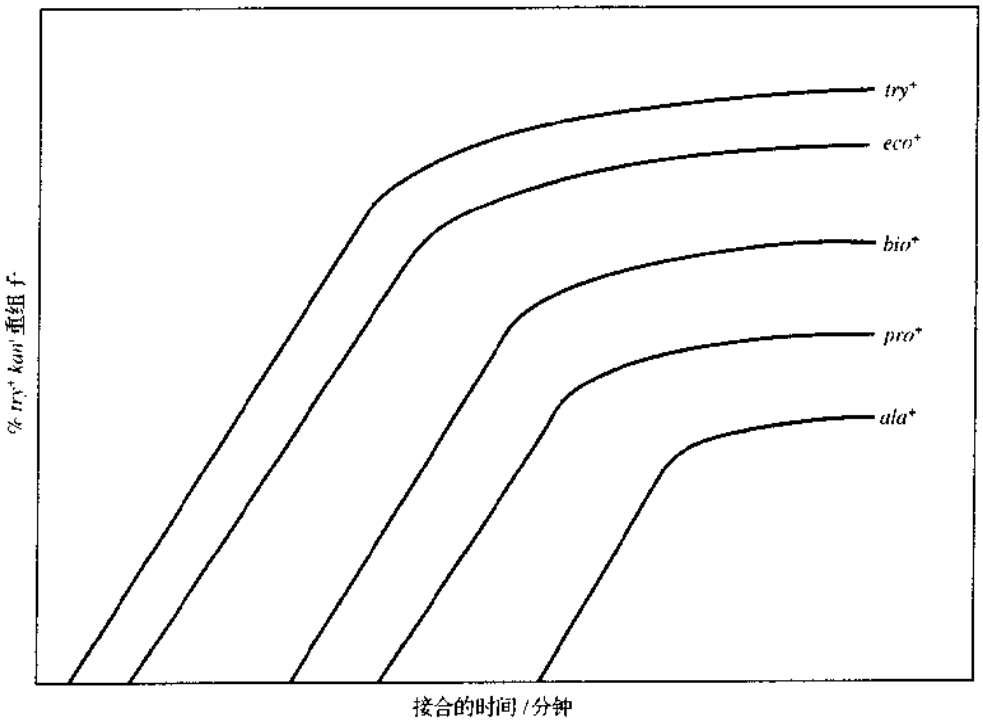
1. 能够自我复制的小型环状 DNA 分子称为（ ）。 (a)内含子 (b)外显子 (c)质粒 (d)转座因子 (e)以上均不是
2. 当一个能够进行接合过程的细菌种群，以非常高的频率转移特殊染色体基因（和半乳糖代谢有关的基因）但没有其他基因时，不管此细菌允许交配的时间有多长，这些细菌都被称为（ ）。 (a)F^+ (b)F (c)Hfr (d)F' (e)以上均不是
3. 一个不会发生在含 DNA 酶培养基中的基因交换机制是（ ）。 (a)特异性转导 (b)接合 (c)转化 (d)一般性转导 (e)同源性重组
4. 在 Hfr 菌株和 F^- 菌株的接合过程中，一个基因从供体到受体的时间（ ）。 (a)和此基因离质粒起始点距离无关 (b)取决于细胞感受态 (c)不时变化 (d)与此基因离转移位置起点的距离成反比例 (e) 与此基因离转移位置起点的距离成正比例
5. 两种细菌培养在 U-形管中，中间用薄膜滤器（噬菌体粒子不能通过）分开，重组却可发生在任何一点上，此基因交换的机制是（ ）。 (a)特异性转导 (b)位点专一重组 (c)接合 (d)转化 (e)一般性转导
6. Ellis-Delbrück 实验证明了（ ）。 (a)噬菌体复制过程中潜伏期的存在 (b) 噬菌体复制过程中隐蔽期的存在 (c)大多数细菌突变体是营养突变体 (d)野生型细菌少突变成营养缺陷型 (e)噬菌体可以溶原化细菌
7. 一般来说，质粒编码的基因特性是（ ）。 (a)对于物种存活不是必需的 (b) 对于物种存活是必需的 (c)也存在于染色体中 (d)大多数能够传递对重金属的抗性 (e)和接合有关
8. 能够被 λ 溶原化的细菌细胞染色体具有（ ）。 (a)80S 核糖体基因 (b)*attB* 位点 (c)*attP* 位点 (d)*attL* 位点 (e)*attS* 位点
9. 大肠杆菌的感受态局限于种群生长曲线的以下阶段（ ）。 (a)延滞期 (b)稳定期 (c)指数期 (d)死亡期 (e)分裂期
10. 被裂解性噬菌体感染的细菌菌苔上可看到噬菌斑。这些噬菌斑代表了以下（ ）的存在：(a)细菌菌落 (b)病毒菌落 (c)营养突变体 (d)F' (e)产生抗生素的细菌
11. 一个原噬菌体是（ ）。 (a)一个营养突变体 (b)一个基因 (c)结合到寄主染色体中的一个噬菌体 DNA (d)包裹到病毒头部的寄主 DNA (e)裂解性噬菌体的 DNA。
12. 引导 F 因子通过菌毛转移的蛋白称为（ ）。 (a)侣伴蛋白 (b)先导蛋白 (c)前导蛋白 (d)信号蛋白 (e)从属蛋白

是非题 正确的答案写“T”，错误的答案写“F”。

1. 细菌细胞通常缺乏质粒。

2. 细菌通过孤雌生殖过程进行复制。
3. 溶原体就是含有原噬菌体的细胞。
4. 通过噬菌斑的存在可检测到细菌是否被裂解性噬菌体感染。
5. 烈性噬菌体可采取原噬菌体状态。
6. 噬菌体 T4 感染细菌细胞，通过菌毛注入它的 DNA。
7. 所有的质粒都可通过位点专一重组插入到细菌染色体中。
8. 噬菌体 λ 染色体的整合作用依赖于寄主 DNA 和病毒 DNA 的附着位点的同时存在。
9. 噬菌体 λ 通过位点专一重组机制结合到寄主染色体中。
10. 溶原体可获得病毒基因。
11. F 因子通过同源性重组插入到染色体中并形成 Hfr 菌株。
12. 钙离子增强某些细菌的感受态。
13. 感受态是一个可遗传的特性。
14. 溶原性噬菌体可作为特异性或局限性转导的媒介。
15. 菌毛在转化过程中起着细胞质桥的作用。
16. 隐蔽性质粒的功能未知。
17. 紫外线可引起一个溶原性噬菌体裂解。
18. 在接合过程中，一个滚环复制得到的一个单链 DNA 分子从供体转移到受体中并合成其互补链。
19. F 质粒插入到细菌染色体的过程发生在一个 IS 中。
20. 转座因子具有末端反向重复。

利用下面的实验结果判断是非题 21～25 的正误：时间为零时，将 Hfr 菌株 D1（ala^+ bio^+ cis^+ dra^r eco^r his^- pro^+ try^+ kan^s）和 F^- 菌株 R1（ala^- bio^- cis^- dra^- eco^- his^- pro^- try^- kan^r）混合。在不同的时间间隔，取出小份等分试样并猛烈混合使交配个体分开（中断杂交）。然后将样品涂布在选择性培养基上，测定已从 Hfr 菌株获得某些基因的 try^+ kan^r 重组体出现的频率。结果如下图。



21. 所有从 D1 得到 try^+ 等位基因的 F^- 细胞也同时得到了 bio^+ 基因。

22. Hfr 染色体中的基因顺序是：*ala*→*pro*→*bio*→*eco*→*try*。

23. 大多数 *try*$^{+}$ *kan*^{r} 重组体细胞可能是 Hfr 细胞。

24. 我们可以通过混合和接合体打断之间的时间间隔以及接合后体的表型来辨别大肠杆菌染色体基因的顺序。

25. 如果 *try*$^{+}$和 *eco*$^{+}$ 基因的转移最早分别发生在 15 和 20 分钟，那么有可能在 21 分钟后检测到 *try*$^{+}$ *eco*$^{+}$ 重组体。

匹配题 将 A 栏中每个项目与 B 栏中的一个项目相配对，使其具有最密切的联系。B 栏中的每个项目只能用一次。

A 栏	B 栏
1. 同向重复	A. 特异性转导
2. 插入序列	B. 反转录酶
3. 转化	C. 细菌的附着位点(供 λ 噬菌体附着)
4. 裂解量	D. F 因子＋染色体基因
5. 衣壳	E. 一级生长曲线
6. Ellis-Delbrück 实验	F. 转座因子的最简单类型
7. 溶原体	G. 每个被感染细胞的噬菌体子代的平均数量
8. 噬菌斑	H. F 因子或 λ 噬菌体
9. Hfr	I. IS 的插入位置
10. F′	J. 带有原噬菌体的细菌
11. 接合	K. 感受态
12. 附加体	L. 病毒群体
13. 温和噬菌体	M. 溶原性噬菌体
14. *attB*	N. DNA 的病毒转移
15. *xis* 基因产物	O. 性菌毛
16. 转导	P. λ 噬菌体从寄主 DNA 上移除下来
17. 反转录转座子	Q. 噬菌体蛋白外壳
18. 中断杂交	R. 染色体上的 F 因子
19. λ 噬菌体	S. 无基柱的细菌
20. F^{-}	T. 绘制细菌基因图的方法

术语 除非特别指明，每个答案为一个词。

1. 用来描述一个将染色体插入到其寄主中的温和噬菌体的词语。

2. 证明噬菌体一级曲线的实验名称。(两个词)

3. 含原噬菌体的细菌细胞。

4. 能够将其整合到寄主染色体中的噬菌体。

5. 被 T4 感染的细菌菌苔表面出现的亮区。

6. F 因子整合到细菌染色体中的重组过程。(两个词)

7. 每个噬菌体从进入一个寄主细胞到细胞释放噬菌体子代的时间在裂解生活周期中所处的阶段。(两个词)

8. 在位点专一重组中，参与 λ 染色体整合到细菌寄主染色体过程的 λ 基因产物和细菌蛋白。(两个词)

9. DNA 通过病毒从供体转移到受体的基因转移机制。

10. 寄主细胞摄取裸 DNA 的基因转移机制。

11. DNA 通过细胞质桥从供体转移到受体的基因转移机制。

12. 给予细菌摄入外源 DNA 能力的状态。
13. 正常情况下，大量基因以低频率进行转移的转导类型。
14. 正常情况下，一个或几个基因以高频率进行转移的转导类型。
15. 许多细菌感受态出现在生长周期中的阶段。
16. 很多细菌细胞质中都可发现的染色体外的自主的 DNA。
17. 在接合过程中是供体的三种大肠杆菌。（三个名称）
18. 用来描述可以促进遗传信息通过接合进行转移的任何质粒（如大肠杆菌的致育因子）的一个形容词。
19. 大肠杆菌菌株具有的能使其进行受体菌不能进行的接合过程的蛋白结构。这些蛋白结构的名称是什么？
20. 在接合中 DNA 复制机制。（两个词）
21. 最简单的转座因子的名称。（两个词）
22. 转座因子的另一个名称。
23. 转座因子插入到寄主 DNA 中的特殊位置的名称。（三个词）
24. 有编码反转录酶基因的转座因子。

答　案

选择题

1. c **2.** d **3.** c **4.** e **5.** d **6.** a **7.** a **8.** b **9.** c **10.** b **11.** c **12.** b

是非题

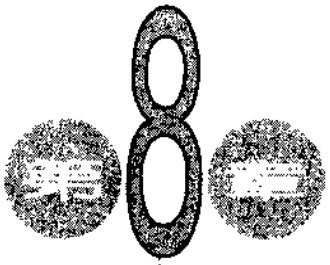
1. F（质粒通常只能在细菌细胞内发现） **2.** F（大多数细菌通过二均分裂进行复制） **3.** T **4.** T **5.** F（只有溶原性病毒能采取原噬菌体状态） **6.** F（T4 通过细胞壁注入其 DNA） **7.** T **8.** T **9.** T **10.** T **11.** F（位点专一重组） **12.** T **13.** T **14.** T **15.** F（接合仅需要菌毛） **16.** T **17.** T **18.** T **19.** T **20.** T **21.** F（仅是那些经过接合后很长时间才能得到 bio^+ 等位基因，并且仅在得到 eco^+ 等位基因以后） **22.** T **23.** F（很少整个供体染色体都被转移） **24.** T **25.** T

匹配题

1. I **2.** F **3.** K **4.** G **5.** Q **6.** E **7.** J **8.** L **9.** R **10.** D **11.** O **12.** H **13.** M **14.** C **15.** P **16.** N **17.** B **18.** T **19.** A **20.** S

术语

1. 原噬菌体 **2.** Ellis-Delbrück **3.** 溶原体 **4.** 温和的或溶原性的 **5.** 噬菌斑点 **6.** 位点专一 **7.** 潜伏期 **8.** int，IHF **9.** 转导 **10.** 转化 **11.** 接合 **12.** 感受态 **13.** 一般性的确 **14.** 特异性的 **15.** 指数 **16.** 质粒 **17.** F^+，F'，Hfr **18.** 接合的 **19.** 菌毛 **20.** 滚环 **21.** 插入序列 **22.** 转座子 **23.** 同向末端重复 **24.** 反转录转座子（反转录子）



基因工程或重组DNA技术

导　言

不同生物 DNA 分子之间的重组是自然界的一个普遍现象。病毒例如 λ 能够将其基因组插入到 *E. coli* 染色体内。在此过程中，病毒可以改变细胞的基因组成。当细菌从一个病毒获得新的遗传信息时，它有时会变成致病的。

☞ **例 8.1**

当白喉杆菌被 β 病毒感染时，它产生一种能引起白喉症状的毒素。编码毒素的病毒基因插入到细菌染色体中成为原病毒。由病毒引起的细菌基因变化即**溶原性转换**(lysogenic conversion)，是自然界基因工程的一个例子。

分子生物学上的发现使得科学家们能够在实验室重复这些自然现象，并发展了能够将几乎所有类型遗传信息引进一个有机体中的方法。大多数进展涉及细菌例如 *E. coli* 和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的遗传操作，以及用酿酒酵母(*S. cerevisiae*)生产消费品，尤其是那些特别昂贵的和那些用传统制造方法不可能实际生产的(表 8.1)。

表 8.1　一些生物技术产品和服务

杂交瘤	抗体	农业	抗病农作物
蛋白质	胰岛素		水培西红柿
	干扰素		抗农药作用
	人血清白蛋白		生物杀虫剂
	人生长激素		固氮作用
	组织纤溶酶原激活物	疫苗	乙型肝炎
	抗凝血酶		疱疹
	凝血因子		流感
	萤光素酶(萤火虫)		疟疾
	淋巴因子	生物除污	脂肪或油的消化器
	肿瘤坏死因子		除草剂的去除剂
	超氧化物歧化酶		农药的降解剂
	人促性腺激素		

在将基因引入动植物中从而治疗遗传紊乱、促进植物和牲畜生产率和增强农作物抗病能力几个方面都取得了相当大的进步。例如，在植物中已引进了无数基因使得植物能够抵抗昆虫和除莠剂。希望有一天能够将编码血红蛋白的 β-珠蛋白亚基的基因引入患有退化及致死性疾病镰状细胞贫血和地中海贫血的患者体内。这两种疾病都是因为 β-珠蛋白基因缺损。许多科学家正尝试将能够把空气中的氮转变成氨的细菌基因引入谷类作物中，如小麦、水稻、大麦和玉米。这样一来，谷类作物就能够在没有现在所需要的昂贵的氮肥情况下生长。另外，国立卫生研究院的调查者们正在进行基因治疗一个免疫缺陷病即**腺苷脱氨酶缺乏**(adenosine deaminase deficiency，ADA)的开拓性研究。此疾病由编码腺苷脱氨酶的基因缺损引起。腺苷脱氨酶能够脱去腺嘌呤的胺基，此酶的缺乏可导致对 B 细胞和 T 细胞(哺乳动物内和表达

免疫有关的淋巴细胞)有毒性代谢物的积聚。由于中毒死亡而引起的免疫细胞显著减少导致了免疫缺陷。

基 因 工 程

8.1　什么是基因工程?

基因工程(genetic engineering)就是人为地利用限制酶将不同生物的 DNA 进行重组从而产生新的 DNA,重组 DNA 通过克隆过程产生许多拷贝。图 8-1 列举了一个典型的克隆实验。一个特殊克隆基因或几个基因的扩增,伴随着这些基因蛋白质产物产量的显著增加,使得实验室提取和纯化这些蛋白质变得较为容易。

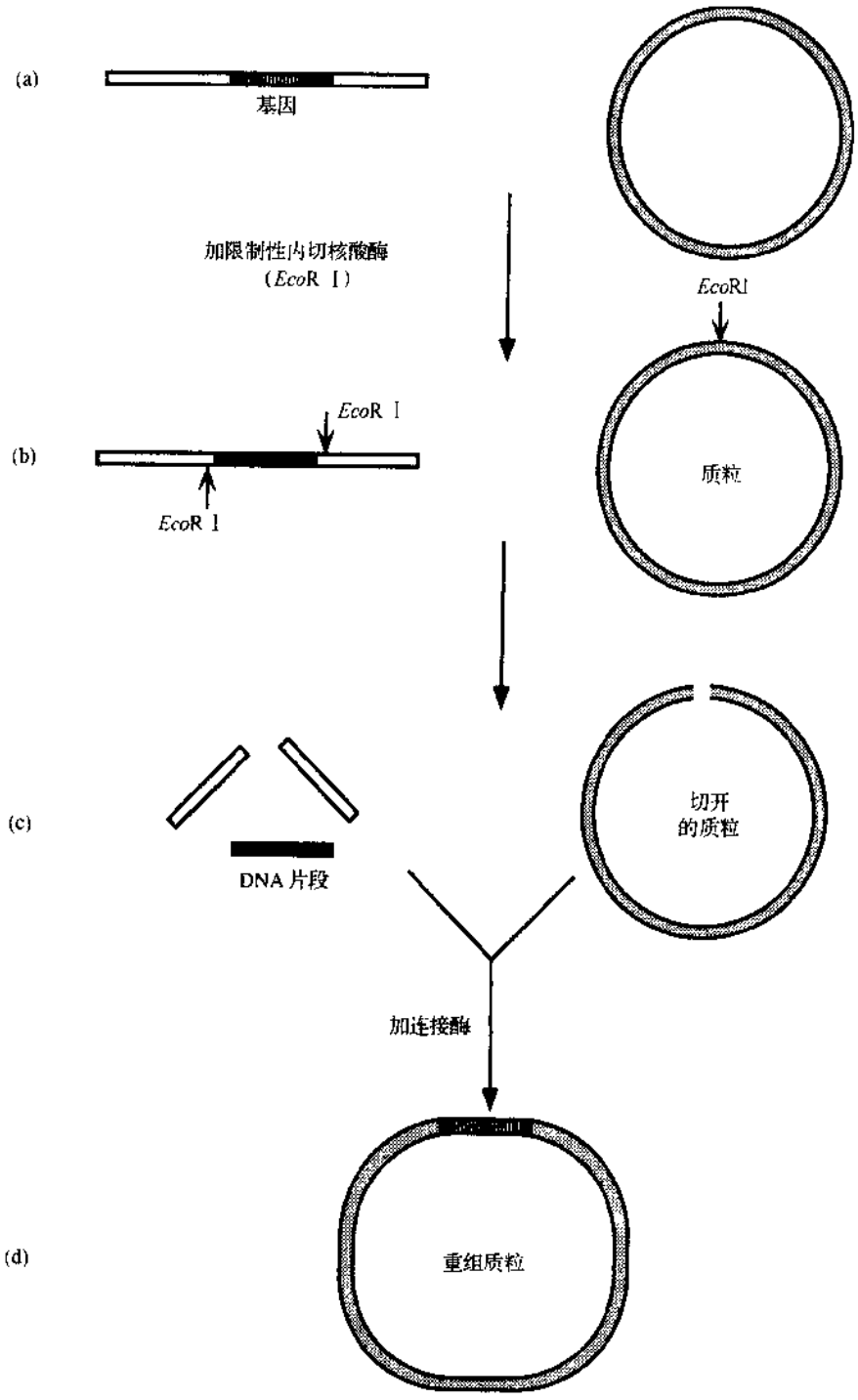


图 8-1(注见下页)

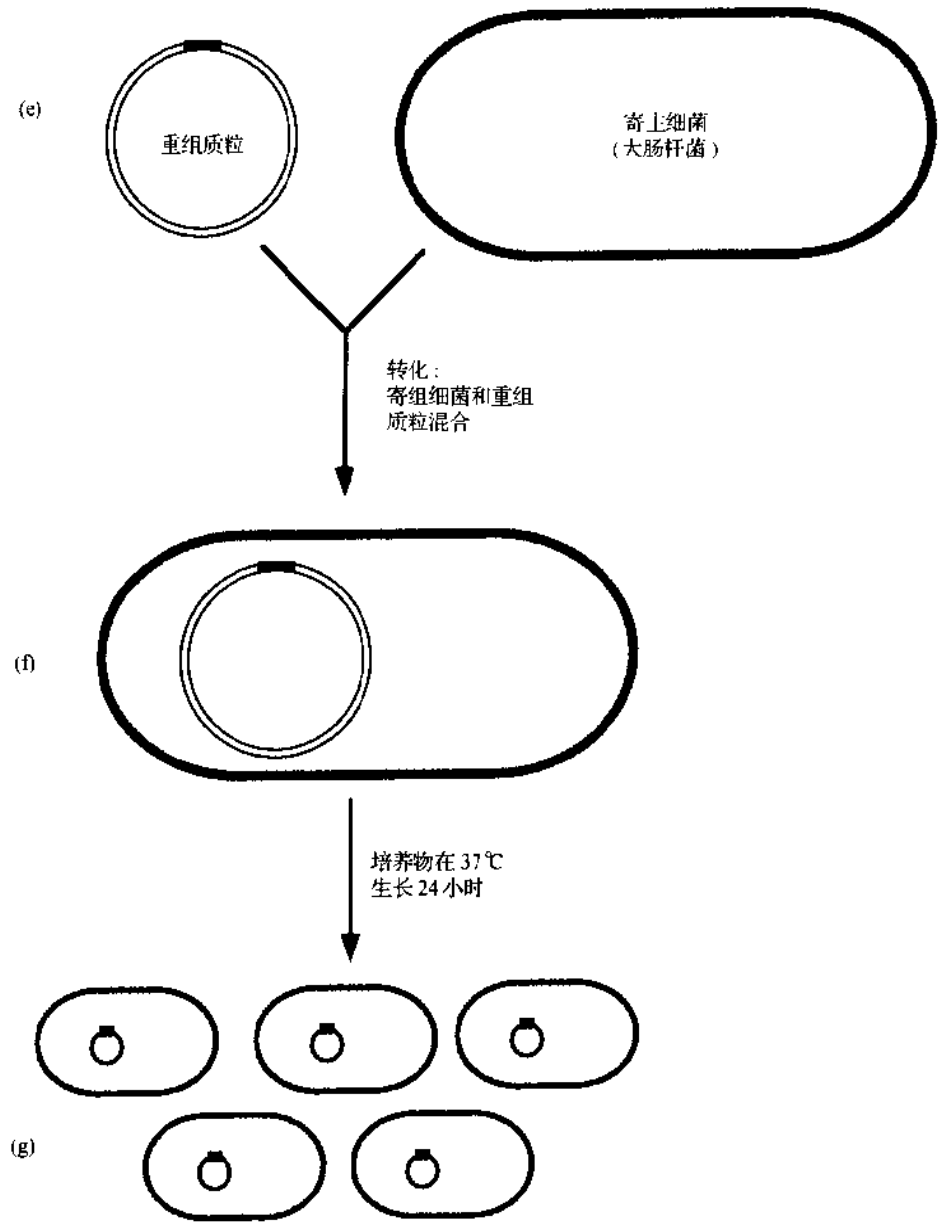


图 8-1(续)　一个典型的克隆实验。(a)选择一个合适的质粒(载体)插入目的基因(供体 DNA)。供体 DNA 和载体都有能让限制性内切核酸酶切 DNA 链的特殊 DNA 序列(4～6bp)。(b)在分开的实验管中,含被克隆基因的 DNA 片段和将要插入基因的质粒都和选择好的限制性内切核酸酶(此例中用的是 *EcoR* Ⅰ)及合适的缓冲液混合。切质粒的酶必须是单切位点。DNA-酶混合物孵育导致目的供体 DNA 片段被切下来并释放。然后切开的质粒可以获得另外的 DNA 片段。(c)将 DNA 片段,切开的质粒和连接酶一起孵育,连接酶就会使质粒和 DNA 片段连接在一起。(d)连接的结果就是重组质粒的形成,此重组质粒含期望的 DNA 片段。(e)重组质粒溶液和能够附着并摄取重组质粒的合适的受体(寄主)细菌例如 *E. coli* 混合孵育。寄主 DNA 没有显示。(f)摄取了质粒的细胞称为转化细胞。(g)转化细胞在合适的培养基内孵育过夜使其繁殖。每个转化的细胞可以多到含 200 个重组质粒的拷贝。

8.2　什么是克隆?

通过克隆过程 DNA 片段插入到质粒或噬菌体染色体中,从而复制产生出大量 DNA 拷贝。通常情况下,当质粒或噬菌体染色体插入到合适的寄主(如一个细菌或一个酵母细胞)中时,寄主 DNA 合成装置就会对寄主细胞内的插入 DNA 进行复制。

8.3　克隆包括了哪些成分?

一个克隆实验包括了五个主要成分。表 8.2 列出了这些成分及它们的功能。

表 8.2　一个克隆实验的成分

克隆的成分	功　能
供体 DNA	被克隆的 DNA 或基因的来源。
限制性内切核酸酶	在特殊位置切供体和载体 DNA 的酶，使得供体 DNA 能够剪接到载体上。
载体	用来将被克隆的基因引入到合适的寄主细胞中的质粒或噬菌体。
DNA 连接酶	将载体和供体 DNA 剪接末端连接在一起的酶，从而形成重组载体。
寄主细胞	通常是一个细菌或一个酵母细胞。将重组载体引入到寄主细胞内可以获得大量重组 DNA 分子。

供体 DNA

8.4　为什么供体 DNA 是必需的?

克隆实验的目的就是从一个生物中分离出想要的基因或 DNA 片段，并将其引入到合适的寄主细胞中从而获得大量此 DNA。被克隆的 DNA 称为**供体 DNA**(donor DNA)。供体 DNA 经常被用来大规模生产一些重要的蛋白质(表 8.1)，也可用来检测传染性试剂或不正常的细胞。

8.5　克隆实验中的供体 DNA 是怎样得到的?

通常供体 DNA 是一个细胞基因组的一小部分，它在每个细胞内以一个或两个拷贝的形式存在。因此在供体 DNA 能被提取前，必须通过一小块组织或通过细胞培养获得足够数量含目的 DNA 的细胞。在足够数量含目的遗传物质的细胞获得后，必须将细胞破裂并提取想要的遗传物质。此遗传物质可能存在于染色体或质粒中。

8.6　怎样从细胞中提取染色体 DNA?

真核细胞的染色体位于细胞核内(见第 3 章)。每个染色体由组蛋白包裹的单链 DNA 分子组成。组成一个细胞染色体的所有 DNA 分子称作这个细胞的**基因组 DNA**(genomic DNA)。

为了释放一个细胞的基因组 DNA，包围并保护遗传物质的膜(质膜和核膜)必须被溶解，组蛋白和其他染色体蛋白质必须被消化。用去污剂溶解组成膜的磷脂部分从而使膜溶解。常用来提取基因组 DNA 的去污剂是十二烷基硫酸钠(SDS)、Triton X - 100 和 Tween。一旦膜被溶解，得到的细胞**裂解物**(lysate)(由核物质、细胞器和染色体组成)用**蛋白酶**(protease)处理(例如蛋白酶 K)将染色体上的蛋白质消化下来。蛋白酶处理后，DNA 会变成水溶液。细胞裂解物用有机溶剂如酚和氯仿的混合物处理，从而除去蛋白质和其他细胞残渣，使基因组 DNA 处于酚和氯仿之间的水相中。

下一步也就是最后一步是收集这些部分纯化的 DNA。当 100%乙醇溶液铺在水相 DNA 溶液表面上时，由于两种液体密度的不同而在乙醇和水之间形成了一个中间相。水相中的基因组 DNA 会在此中间相中以聚集的细长白色丝状不透明物质的形式沉淀出来。用玻璃棒可将基因组 DNA 从中间相中取出。为了做到这一步，将玻璃棒插入到中间相中使 DNA 链**缠绕**(spooled)包裹在玻璃棒周围。得到的 DNA 可被干燥，重新溶解在水溶液中，从而可用于许多步骤中。

8.7　怎样从细菌中提取质粒 DNA?

细菌细胞的基因组由一个单链的环状 DNA 分子("染色体")组成。质粒是独立存在于细

菌染色体外的小的可进行自我复制的 DNA 分子。质粒具有指导自身复制的遗传信息和一些对细胞有选择有利性的基因。这些基因的例子有抵抗抗生物剂的、抗重金属的以及抗生素的产生。因为许多细菌细胞同时具有细菌染色体和几个质粒，分离质粒 DNA 就需要有一步将目的质粒 DNA 和细菌染色体(基因组)DNA 分离开。

和真核细胞一样，细菌细胞用去污剂处理从而破坏质膜。因为细菌具有细胞壁，所以还需要有**溶菌酶**(lysozyme)除去这层外壁。溶菌酶和去污剂的处理使质粒和染色体 DNA 都从细胞中释放出来。对于从细胞中选择性分离质粒 DNA，在去污剂溶液中还要加入氢氧化钠(NaOH)使 DNA **变性**(denature)(即使两个链分开)。用 NaOH 和去污剂使 DNA 变性的方法被称为**碱裂解**(alkaline lysis)。染色体 DNA 和许多蛋白质及膜成分的除去通过，在混合物中加入钾(以醋酸钾形式)，然后离心。选择性沉淀染色体 DNA 是因为基因组 DNA 的大小要大得多；较大的染色体 DNA 比较小的质粒 DNA 分子易于被醋酸钾沉淀。经过此步，质粒 DNA 和细胞 RNA 仍留在溶液中。此溶液即**澄清裂解液**(cleared lysate)。RNA 可用 RNA 酶处理除去，而 RNA 酶用有机溶剂(酚-氯仿)除去。然后质粒 DNA 用乙醇沉淀，干燥，重新溶解在水溶液中，从而可用于多项用途中。

限制性内切核酸酶

8.8 限制酶是怎样被首次发现并用于生产重组 DNA 分子的?

1962 年，据瑞士日内瓦大学 Werner Arber 报道，生长于一个 *E. coli* 菌株上的细菌病毒 λ 没有感染第二个菌株。他发现生长在一个 *E. coli* 菌株 K 上的病毒 100%都能在此菌株内很好地繁殖，但此病毒却不能在同样的菌株 B 内繁殖。这些证据使得 Arber 和他的同事相信某些细菌具有酶系统能够消化并破坏外源 DNA，在此例中就是病毒 DNA。他们把这些酶称为**限制性内切核酸酶**(restriction endonuclease)。自从 Hamilton Smith 和他的同事在 1970 年首次分离了限制性内切核酸酶后，科学家们已发现并鉴定了 200 多个限制性内切核酸酶(表 8.3)。1971 年，Paul Berg、Herbert Boyer 和他们的同事利用从猿猴病毒 40(SV40)中得到的 DNA 和细菌病毒 λ 以及限制酶制出了第一个重组 DNA 分子。

表 8.3 一些限制酶和它们的识别序列

酶的名称	细菌来源	识别序列*	同切点酶**
Alu I	*Arthrobacter luteus*	AG↓CT	没有
Ava I	*Anabaena variabilis*	C↓(T/C)CG(A/G)G	*Eco*47, Sin I
*Bam*H I	*Bacillus amyloliquefaciens*	G↓GATCC	没有
Cla I	*Caryophanon latum*	AT↓CGAT	*Ban* III
*Eco*R I	*Escherichia coli*	G↓AATTC	没有
Hae III	*Haemophilus aegyptius*	GG↓CC	*Pal* I
Hind III	*Haemophilus influenzae*	A↓AGCTT	没有
Kpn I	*Klebsiella pneumoniae*	GGTAC↓C	*Dpn* I
Not I	*Nocardia otidis-caviarum*	GC↓GGCCGC	没有
Pst I	*Providencia stuartii*	CTGCA↓G	没有
Xba I	*Xanthomonas badrii*	T↓CTAGA	没有
Xho I	*Xanthomonas holcicola*	C↓TCGAG	*Pae*R7 I

* 限制酶在识别序列内切的位置用"↓"表示。

** 见问题 8.10.

8.9 什么是限制性内切核酸酶?

限制性内切核酸酶(restriction endonuclease)是能够识别双链 DNA 分子中特殊核苷酸序列并在这些位置上切 DNA 的细菌酶。这些酶将 DNA 切成长度不同的片段，这有赖于酶识别位点在分子中重复的次数。用于克隆实验中的限制性内切核酸酶类型Ⅱ识别长度为 4～8 个

核苷酸的碱基对序列并在此序列内切割。例如，限制性内切核酸酶 *Sma* I 识别序列 5′-CCCGGG-3′并在邻近的 C 和 G 之间切，而 *Eco*R I 识别序列 5′-GAATTC-3′并在 G 和 A 之间切。这些位点称为**识别序列**(recognition sequence)。因此，被限制性内切核酸酶类型Ⅱ切的 DNA 分子必须在 DNA 被切的每个位置上有它的识别序列。许多限制酶的识别序列为**回文序列**(palindrome)。回文序列就是当以相同方向(5′→3′)阅读时，DNA 的两条链上都是同样的 4～6 个碱基(核苷酸)顺序。例如，酶 *Bam*HI 的识别序列是：

5′-GGATCC-3′

3′-CCTAGG-5′

注意当以 5′→3′方向阅读时，两条链的序列都是 GGATCC。那就是回文序列的一个例子。限制性内切核酸酶切 DNA 后产生具有**黏性末端**[cohesive (sticky) end](图 8-2a)或**平头末端**(blunt end)(图 8-2b)的片段。

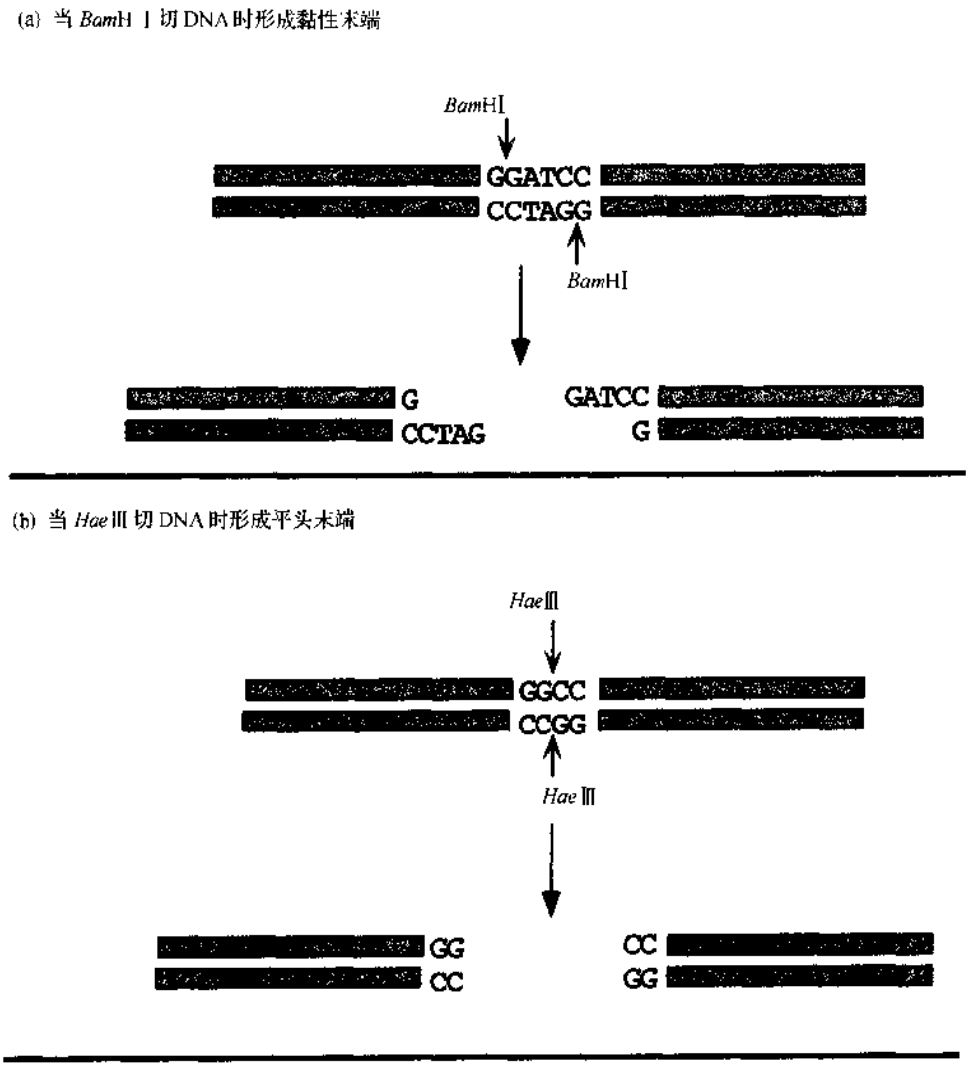


图 8-2 限制酶切 DNA 可以形成(a)黏性末端或(b)平头末端，这取决于它们在识别序列内切的位置。

限制性内切核酸酶因它们来自的细菌种类而得名。例如，限制性内切核酸酶 *Eco*RI 从大肠杆菌(*Escherichia coli*)的菌株 R 获得，而酶 *Hind*Ⅲ来自流感嗜血菌(*Haemophilus in fluenzae*)的菌株 D。罗马数字表示了特殊限制酶从微生物中分离的次序。例如，*Eco*RI 是从 *E. coli* 的菌株 R 中分离出来的第一个限制酶，而 *Hind*Ⅲ是从 *H. influenzae* 的菌株 D 中分离出来的第三个限制酶。

8.10 两个不同的限制酶能否在相同的识别序列内切?

能，不同微生物产生有相同识别序列的限制性内切核酸酶。这些就是**同切点酶**(isoschi-

zomer)，表 8.3 列出了一些同切点酶。

8.11　一个 DNA 分子的限制酶消化产物是如何被检测到的?

限制酶消化得到的片段可通过电泳过程显示。在电场的影响下，电泳涉及带电分子或离子在固定基质载体媒介物上的运动。琼脂糖凝胶是 DNA 电泳的常用媒介物。对于一个典型装置，在电泳槽内有胶和缓冲液。直流电源必须能够达到 50～300 伏的电位差(图 8-3)。

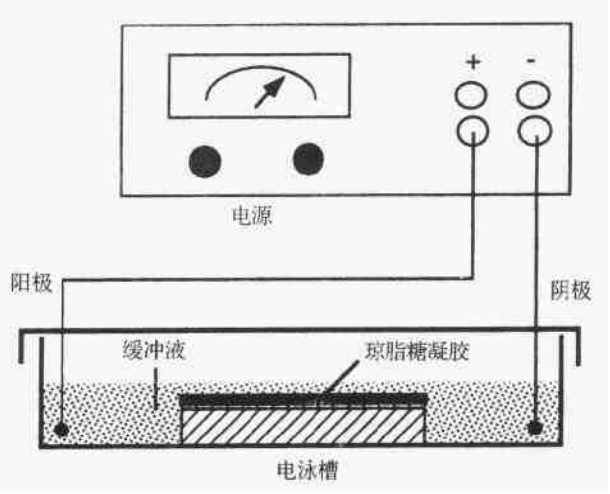


图 8-3　水平电泳装置。

琼脂糖凝胶在模子中塑造成薄板状并在一端有加样孔，将此胶没于缓冲液下面并使加样孔端向着负极(阴极)。用微量加样器将样品加到孔内，开电源使系统内有电流。因为核酸在 pH 为 8 时带有负电荷，所以核酸会在琼脂糖凝胶内由负极向正极(阳极)迁移。琼脂糖凝胶作为分子筛，通过 DNA 分子的大小和它们所带总电荷将 DNA 分子分开。通常 DNA 溶液用染料[如**溴酚蓝**(bromophenol blue)]染色，以便于能看到 DNA 在胶上的电泳迁移情况，并在 DNA 迁移出胶进入缓冲液前停止电泳。

带电大分子(例如 DNA)在所加电场上的迁移率和大分子的总负电荷成正比，和它的质量成反比。DNA 的电泳率主要受其大小和形状的影响。小片段 DNA 比大片段迁移得快。因此，通过电泳可使 DNA 片段因大小而分开。图 8-4 例举了噬菌体 λ 基因组用酶 *Hind*Ⅲ切并经过电泳后显示在胶上的情况。条带表示分开的 DNA 片段。较大片段的条带离胶的起点近，而较小片段的条带离胶的起点远。

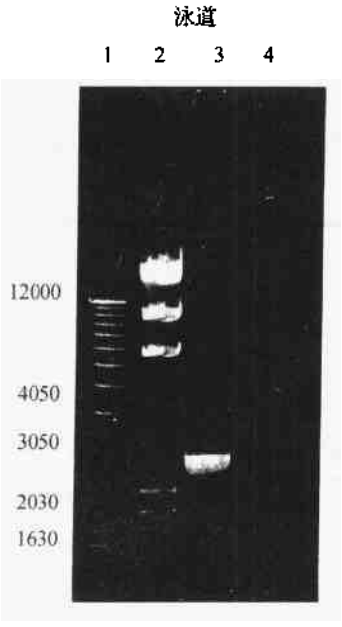


图 8-4　噬菌体 λDNA 和质粒 pBR322 限制酶切消化。此照片列举了用酶 *Hind*Ⅲ切两个不同 DNA 分子的限制性内切核酸酶消化电泳图。尽管 *Hind*Ⅲ消化噬菌体 λDNA 产生七个片段(泳道 2)。在这儿只能看见五个条带是因为有两个条带在电泳过程中已迁移出胶。加在胶顶部(阴极)的 DNA 样品向下(阳极)迁移。质粒 pBR322 的酶切消化在泳道 3。泳道 1 是一个作为分子质量参照的标记 DNA，以便能够测量出限制酶切消化的确切分子质量。泳道 4 是空的。左边的数字表示响应条带的碱基对数。

8.12　怎样才能使胶内的 DNA 显现出来?

DNA 分子是裸眼看不见的,但用**溴化乙锭**(ethidium bromide)染色后就能在胶内被看见。溴化乙锭分子能够插入到 DNA 分子的碱基中间并发荧光。结果就是用溴化乙锭处理的 DNA 分子通过紫外灯激发能够发橙色荧光。图 8-3 中的照片是胶在紫外灯下照射时拍的。

8.13　什么是限制酶图谱及限制酶图谱是怎样绘制出来的?

因为限制性内切核酸酶在特殊的位置切 DNA,来自一个有机体的 DNA 分子可通过限制性内切核酸酶切此 DNA 的次数来和其他 DNA 分子区分开来。例如,限制性内切核酸酶 *Hind*Ⅲ在噬菌体 λ 染色体上六个不同位置切病毒 DNA,产生七个片段(图 8-5)。另一方面,质粒 pBR322 对于 *Hind*Ⅲ仅有一个识别位点。所以酶切此质粒就会使环状 DNA 分子变成一个两端仍有 *Hind*Ⅲ识别位点的线性 DNA 分子。两个或更多限制性内切核酸酶识别位点的图解表示法就是那个分子的限制(性内切核酸酶)酶图谱。图 8-5 是噬菌体 λ 的限制酶图谱。

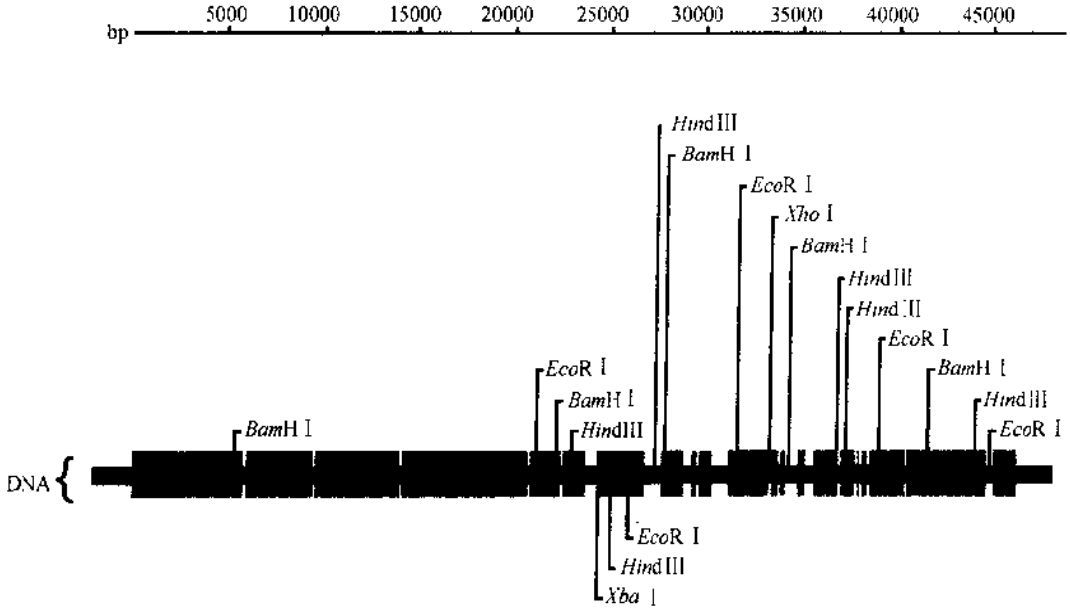


图 8-5　噬菌体 λ 的限制性内切核酸酶图谱。此限制性内切核酸酶图谱利用酶 *Bam*H Ⅰ、*Eco*R Ⅰ、*Hind* Ⅲ、*Xba* Ⅰ和 *Xho* Ⅰ得到。λ 染色体离一个标准参考点的碱基对数量在图的顶部显示。这样一来,左边第一个切的是 *Bam*H Ⅰ,发生在距参考点大约 5000 个碱基对左右。

8.14　限制酶作图的方法是什么?

下面的例子说明了限制酶作图的方法。限制性内切核酸酶 *Xba* Ⅰ将 λDNA 切成两个片段:一个 5′-24 508 碱基对(bp)的片段和一个 23 994-3′bp 的片段(图 8-6a)。限制性内切核酸酶 *Nar* Ⅰ也将 DNA 切成两个片段:长度为 45 680bp 的片段和长度为 2 822bp 的片段(图 8-6b)。然而,相对于酶 *Xba* Ⅰ,*Nar* Ⅰ有两种可能的方式切 λDNA:一个 5′-45 680bp 的片段和一个 2822-3′bp 的片段或一个 5′-2822bp 的片段和一个 45 680-3′bp 的片段。关于 *Xba* Ⅰ方面,两种可能性中哪一个是 *Nar* Ⅰ的正确切割位点?

为了回答这个问题,我们必须使 DNA 受到两个酶的同时消化。当双重消化发生时,限制酶切 DNA 走电泳可看到三个片段:24 508bp 片段、21 072bp 片段和 2822bp 片段(图8-6c)。那也就是说,*Nar* Ⅰ朝 λ 染色体的 3′端方向切割则产生 2822bp 的片段。

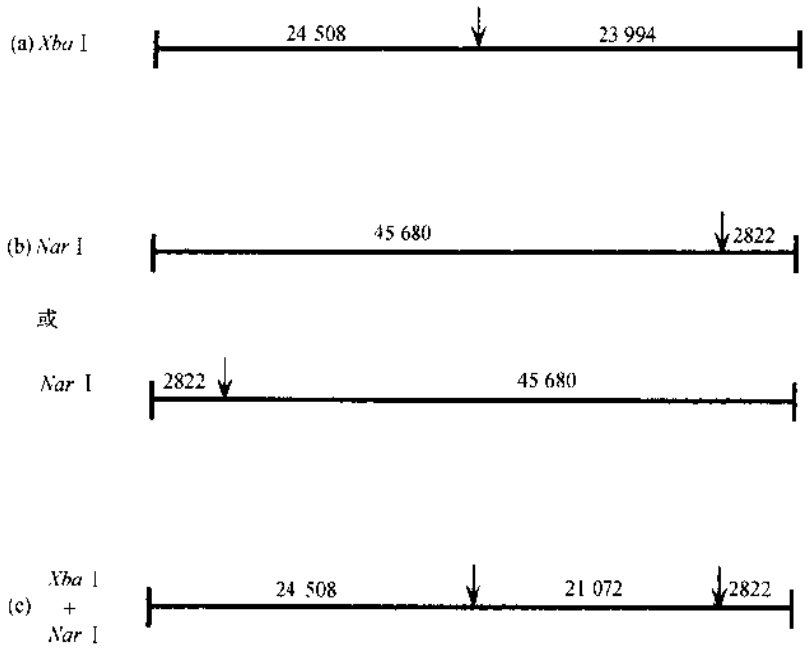


图 8-6 限制酶作图方法。解释见正文。

8.15 什么是 DNA 指纹法?

众所周知没有两个人有同样的指纹。指纹特征能使法律执行机构,根据犯罪现场留下的指纹确定一个人是否有罪。分子生物学技术使得法庭科学家能够将犯罪现场留下的物质例如血液、皮肤和精液建立为 DNA"指纹",从而鉴别罪犯。DNA 指纹技术检测独特的 DNA 片段(在一个人种群中)即**限制性片段长度多态性**(restriction fragment length polymorphism, RFLP)。此名字的得来是因为当从一个个体的细胞提取的 DNA 被一个限制酶切时,被切 DNA 电泳时会产生一个几乎惟一的条带。DNA 突变(插入和缺失)引起的不同等位基因导致被限制酶切的片段大小的改变。出现在电泳后的限制酶切 DNA 片段(长度不同的 DNA)图类似一个条带密码。从一个人细胞得到的条带图可以和其他人的非常不同。这是因为人染色体高变区的存在。

正如第 3 章所指出的,许多人染色体 DNA 不编码 RNA 或蛋白质。在一个染色体的非编码区中有一些由一个小片段不断重复(图 8-7)组成的长度为成千上万个碱基对的序列。这些小片段就是**同向重复序列可变数**(variable number of tandeon repeat, VNTR)。人与人之间的重复片段数量差别很大。在人染色体中,许多 VNTR 区的任一端和限制性内切核酸酶切位点相接(图 8-7)。被限制性内切核酸酶切后,VNTR 等位基因在片段大小上彼此各不相同,因此产生几乎惟一的 RFLP 图。

获得 DNA 指纹的步骤首先是分离细胞 DNA。此 DNA 仅用一个限制性内切核酸酶例如 *Pst* Ⅰ或 *Hae*Ⅲ切并走电泳将不同片段按照它们的长度(分子质量)分开。因为人类染色体组有 30 亿个碱基对(60 亿个核苷酸),因此电泳后所有得到的条带互相交叠在一起,看到的是一个不清晰的成片电泳条带。

为了使一个特殊 VNTR 位点的指纹图能直观看到,相应 VNTR 的 DNA 片段必须用 DNA 杂交技术检测。DNA 杂交技术将在第 9 章详细讨论。电泳后,将 DNA 碱变性并转移到硝化纤维素(或尼龙)膜上。膜上的 DNA 和一个具有放射性的 DNA 分子(称为一个探针)进行杂交,探针是实验室合成的具有核心序列互补序列的 DNA 分子。杂交后进行放射自显影并洗 X 光片。得到的放射自显影图上的条带图就是那个人的 DNA 指纹(图 8-8)。

利用此技术,法庭科学家可以找到丢失的人,可以确定一个人是否是一个孩子的父母,也可建立合理的证据用来判断一个人是否犯了他或她所被控的罪行。

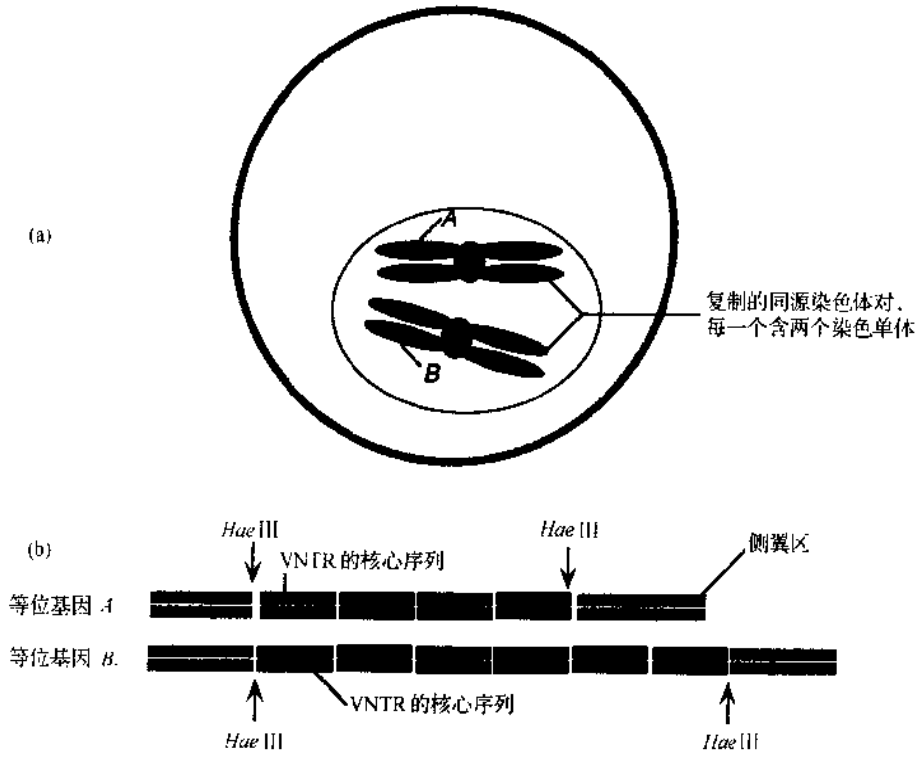


图 8-7　一个人的间向重复序列可变数(VNTR)的结构。每个人二倍体细胞含 23 对同源染色体。对于染色体上每一个 VNTR 片段，每个染色体都有它的一个等位基因(可变形式)。图(a)说明了一个有一对染色体的细胞，此染色体在发现一个 VNTR 的相同基因座处有两个等位基因(A 和 B)；(b)每个等位基因因核心序列首尾(串联)重复的数量和其他等位基因不同。此 VNTR 由限制酶 *Hae*Ⅲ的识别位点确定。因为每个等位基因核心序列的重复数量和其他各不相同，在电泳或 DNA 印迹(图 9-3)中，这两个等位基因会是两个不同的条带。一个种群有无数 VNTR 等位基因。因为两个人不可能有相同的 VNTR 等位基因对重复模式，所以它们可以用来区分两个不同个体的细胞。

8.16　含有克隆想要基因的片段是怎样被识别并被分离的?

在一个有机体的 DNA 分子内识别出想要基因的一个常用方法就是 **DNA 印迹杂交**(Southern blot hybridization)。此技术(第 9 章详细讨论)能在限制酶消化和染色体 DNA 电泳后用来识别特殊 DNA 序列。为了做到这一步，将小部分限制酶切 DNA 走琼脂糖凝胶电泳并进行 DNA 印迹。一旦有目的基因的限制酶切片段的精确位置通过 DNA 印迹确定后，走电泳，将含目的基因的那部分胶从胶上切下来并洗脱 DNA。洗脱下来的 DNA 可用于后面的克隆实验。

8.17　在克隆实验中，当用限制性内切核酸酶将目的供体 DNA 从基因组上切下来后发生了什么?

当用限制性内切核酸酶将供体 DNA 的目的片段从供体基因组上切下来后，得到的片段剪接或**连接**(ligated)到**载体**(vector)DNA 分子上。

载体

8.18　什么是载体?

载体是一个 DNA 分子，结合在载体上的外源 DNA 分子能够剪接并插入到细胞内，以便“重组体”DNA 能被复制。载体可通过转化或转导(见第 7 章)引入到寄主细胞内。

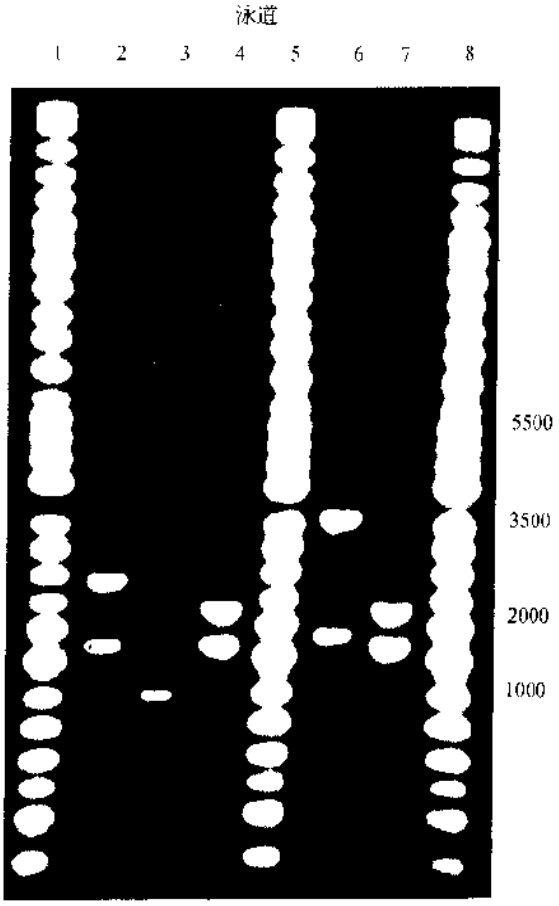


图 8-8　一个人 VNTR 位点(D2S44)的放射自显影。此放射自显影说明了从四个不同个体中试图鉴别出一个未知样品 DNA 来源的研究。泳道 1,5,8 是分子质量标记,用来确定每个片段的确切大小。泳道 2,3,4,6 相应于四个不同的个体。泳道 7 是未知来源样品。正如我们所看到的,泳道 4 的个体有着和泳道 7 相同的 VNTR 图,因此可能是未知 DNA 的来源。右边的数字表示泳道 1,5,8 内相应条带的碱基对数。

8.19　克隆载体必须具有什么特征?

用于克隆基因的载体有七种不同的类型。然而,质粒和细菌病毒(噬菌体)是最常使用的载体,因为它们容易进入细胞且在实验室内容易操作。不管什么类型,载体必须有某些适合克隆的特征。表 8.4 总结了克隆载体必须具有的最重要的特征。

表 8.4　克隆载体的特征

特　征	功　能
在寄主细胞内稳定	允许复制
能控制自身复制	使得它们能够在细胞内复制出高拷贝数
大小较小	容易通过转化、电穿孔或转导进入细胞
能被限制性内切核酸酶单切点酶切	允许供体 DNA 的插入且质粒能够重新环化
不能通过接合转移	阻止重组 DNA 进入自然细菌种群内
有易于检测的特性	使得有可能区分转化的和没转化的细胞
容易从细胞内分离	增加重组质粒的产量

大多数克隆载体相对较小(2000～6000bp),它们的复制不受寄主细胞的严格控制。最常用的载体(例如质粒和噬菌体)能够控制自身复制并在每个细胞内形成许多拷贝(50～200

个)。而另一方面,复制受寄主细胞调控的质粒通常每个细胞只产生2～3个拷贝,一个低拷贝数。高拷贝数质粒的好处就是有可能从每个细胞得到许多想要的DNA拷贝。

克隆载体必须具有遗传信息能够插入的限制性内切核酸酶识别位点。正如图8-9所示,克隆载体pGEM®对于限制性内切核酸酶*Eco*RⅠ、*Hind*Ⅲ、*Bam*HⅠ和几个其他酶中的每一个只有一个酶切位点。就是在这些位置上,被克隆基因(外源、插入或供体DNA)能被插入。几个克隆载体被改造成具有一个**多克隆位点**(multiple cloning site,MCS),每一个有几个不同的限制酶切位点。

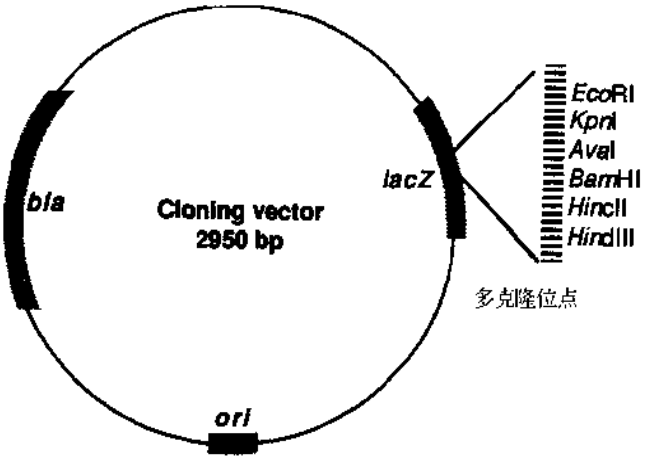


图8-9 克隆载体pGEM®的显著特点。克隆载体例如pGEM®是小分子(2500～3500bp),且有寄主细菌能识别的复制起点(*ori*),这样就允许克隆载体在寄主内复制。另外,克隆载体具有一个多克隆位点(MCS),此多克隆位点是由含有两个或更多限制性内切核酸酶的单识别位点的小片段DNA组成的。MCS在表达基因例如*lacZ*内能找到,因此重组体分子能通过插入失活来检测。克隆载体还具有可选择基因例如*bla*基因,此基因编码β-内酰胺酶且能通过克隆载体将青霉素(Amp^r)抗性转移到转化的细菌内。

多数现在的克隆载体在*lacZ*基因内都有多克隆位点。此基因在诱导物如异丙基硫代半乳糖苷(IPTG)存在的情况下能够产生β-半乳糖苷酶。β-半乳糖苷酶可使乳糖变成半乳糖和葡萄糖。如果供体DNA片段插入到克隆位点内,就会改变*lacZ*基因序列从而不再产生功能性酶。此现象被称为**插入失活**(insertional inactivation)。按惯例,用一种称作**白-蓝菌落筛选**(blue-white colony screening)的筛选方法检测重组体。具有完整*lacZ*基因的细胞能产生β-半乳糖苷酶,使**X-gal**(5-溴-4-氯-3-吲哚-β-*D*-半乳糖苷或简单写成β-*D*-半乳糖苷)发生分解代谢,从而产生一种能使菌落染上色的蓝色色素。蓝色菌落中有含一个完整*lacZ*基因的细胞。重组体细胞具有失活的*lacZ*基因且不能使X-gal代谢。这些白色菌落具有想要的克隆基因。

一个克隆载体还必须易于选择且容易在细胞内维持。携带抗生素抗性基因的载体能在含抗生素的生长培养基内维持且易于选择。当这些载体进入合适的寄主细胞内,细胞就变得能够抵抗抗生素且能在含抗生素的培养基内生长。没有转化的细胞不能在含抗生素的培养基内繁殖。

8.20 什么是表达载体?

克隆的一个主要目的就是产生大量目的基因或其产物。只有当克隆载体具有寄主细胞的启动基因转录及翻译mRNA的调节位点(图8-10)时,才能获得目的蛋白质产物。**表达载体**(expression vector)是带有一个能被寄主细胞有效转录并翻译的基因载体。

启动子部位(P)和终止子部位(TER)是转录所必需的。目的基因的转录开始于启动子部位,结束于终止子部位。起始密码子上游的核糖体结合位点也存在于很多表达载体中。此位点对于细菌内有效启动翻译是必需的(见第5章)。

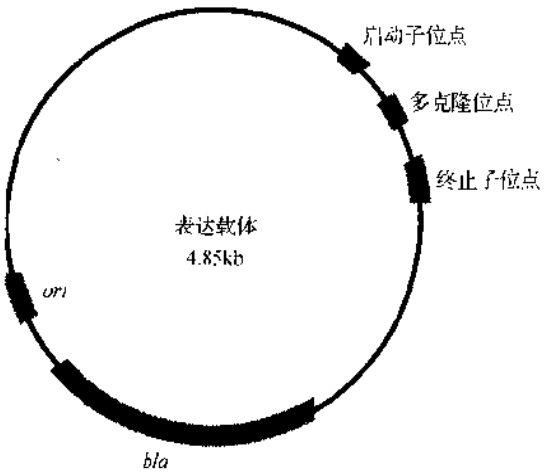


图 8-10 一个表达载体。此图说明了一表达载体的主要成分。

DNA 连接酶

8.21 插入(供体)DNA 和载体(受体)DNA 是怎样剪接在一起的?

供体和载体 DNA 分子通过**连接酶**(ligase)或**多核苷酸连接酶**(polynucleotide ligase)连接或剪接在一起。连接酶能够催化供体 DNA 片段的 3′-羟基和载体 DNA 的 5′-磷酸基间的磷酸二脂键的形成。在典型克隆实验中,用同一个限制酶切的供体 DNA 片段和载体 DNA 混合在一起,而连接酶则进行实际的剪接作用将 DNA 连接到载体上。克隆实验中常使用的 DNA 连接酶是从大肠杆菌或噬菌体 T4 中获得的。

正常情况下,载体通过**碱性磷酸酶**(alkaline phosphatase)除去它们的 5′-磷酸基来阻止自身连接作用。没有 5′-磷酸基,载体不能形成所需的共价键。供体 DNA 因其 5′-磷酸基仍是完整的,所以供体 DNA 可以连接到载体上。

寄主细胞

8.22 用于基因工程目的的寄主细胞应具备什么样的属性?

现已发展了许多细菌和酵母菌株尤其是应用于重组体 DNA 实验。这些寄主细胞中的很多都有一组与它们相匹配的载体,而这些载体是成功克隆基因所必须用的。这是因为不是所有的克隆载体都有相同的复制起始位点(*ori*)。为了使质粒能够被细胞所复制,此细胞必须能够识别出它自身的 *ori* 位点并在那里开始 DNA 复制。出于安全考虑,寄主细胞在自然中必须不能复制。这就减少了实验室工作人员及普通人群偶然感染的机会。另外,DNA 从一个寄主细胞转移到另一个细胞的过程必须能够避免,从而阻止重组体 DNA 在自然界有机体种群内的传播。

8.23 重组体 DNA 分子是怎样进入寄主细胞的?

重组体质粒载体通常通过一种类似转化的过程引入细胞内(图 8-11)。细胞用 0.1mol/L $CaCl_2$ 处理形成感受态,然后和载体一起孵育。在孵育过程中,一些细胞被重组体载体转化,然后用合适的培养基进行筛选。

许多实验室用**电穿孔**(electroporation)方法将重组体 DNA 分子引入寄主细胞中。在此方法中,处于指数生长期的寄主细胞悬浮液与重组体 DNA 分子混合,并在高电场(高至 2500 伏)下暴露几毫秒。高电压可以改变膜结构形成暂时的孔,允许质粒进入细胞。此方法用得很广是因为其快速有效,尤其是当用转化方法很难将 DNA 引入细胞的时候。

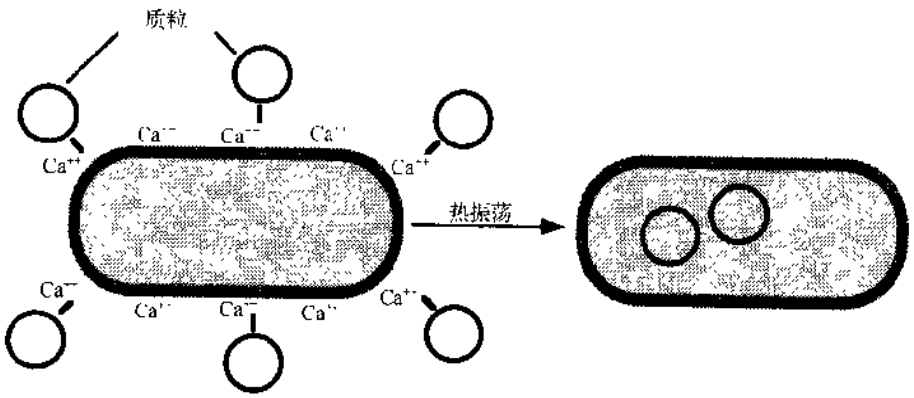


图 8－11　质粒 DNA 进入 $CaCl_2$ 处理的感受态细胞中。细胞周围的 $CaCl_2$ 能够促进 DNA 结合到细胞表面并使细胞更易于 DNA 通过。热振荡(40℃，60～90 秒)使一些结合的 DNA 进入细胞。

☞ 例 8.2

在南方温暖的夏夜，你可看到萤火虫(*Photinus pyralis*)腹部的灯在一闪一闪。这些闪烁的光是通过萤光素酶催化，在氧、ATP 和萤光素存在的情况下发生化学反应后产生的。萤光素酶基因(*luc*)作为实验工具被用来确定和它一起的其他基因是否插入到植物中。萤光素酶基因产物作为标记(报告基因)指示基因在植物中的活性，因为当它们存在时植物会发光。发育生物学家相信他们能够用萤光素酶基因研究生物发育过程中基因的开放和关闭。另外，萤光素酶被广泛用于临床化学和微生物学实验室的生化化验。

直到最近，萤火虫萤光素酶的惟一来源还是从萤火虫腹部提取。提取过程不仅费时且有时萤火虫的来源是不可预测的。加利福尼亚大学圣迭戈分校的一组科学家从萤火虫里分离出了编码萤火虫萤光素酶的 mRNA，将其转变成了 DNA 并克隆到 *E. coli* 质粒中。分离和克隆萤火虫萤光素酶基因的步骤在图 8－12 列出。功能性萤火虫萤光素酶基因也被引入植物细胞内。植物细胞表达萤光素酶基因，在提供萤光素、ATP 和氧的情况下植物会在夜晚发光。这类实验被用来评价向农作物内引入有用基因如能使植物固氮或变得对除草剂有抗性的基因的情况。

8.24　细菌不具备加工真核信使 RNA 前体分子的机制。那么怎样才能在细菌内克隆真核基因，合成有感 mRNA 并产生功能性蛋白质?

细菌常用来表达真核基因，但遗传信息必须缺乏内含子且仅含有编码序列。为了做到这一步，必须从供体真核细胞内分离 mRNA(已进行加工，所有内含子已除去)。单链 RNA 到双链 DNA 的转变通过**反转录酶**(reverse transcriptase)获得。此酶以 RNA 为模板合成 DNA。得到的 DNA 分子即 cDNA(互补 DNA)可用于细菌内克隆，因为这些 DNA 分子没有内含子只有编码蛋白质的遗传信息。

8.25　克隆实验是否能在细菌外的微生物中进行?

可以。虽然细菌特别是大肠杆菌是非常理想的克隆寄主，因为它们能在普通实验室培养条件下很快繁殖且有已深入了解的染色体，但是它们并不总是适合所有类型的克隆实验。通常真核基因的克隆和表达在真核寄主内能更好地完成。酵母菌酿酒酵母(*S. cerevisiae*)是这类克隆实验的一个选择。

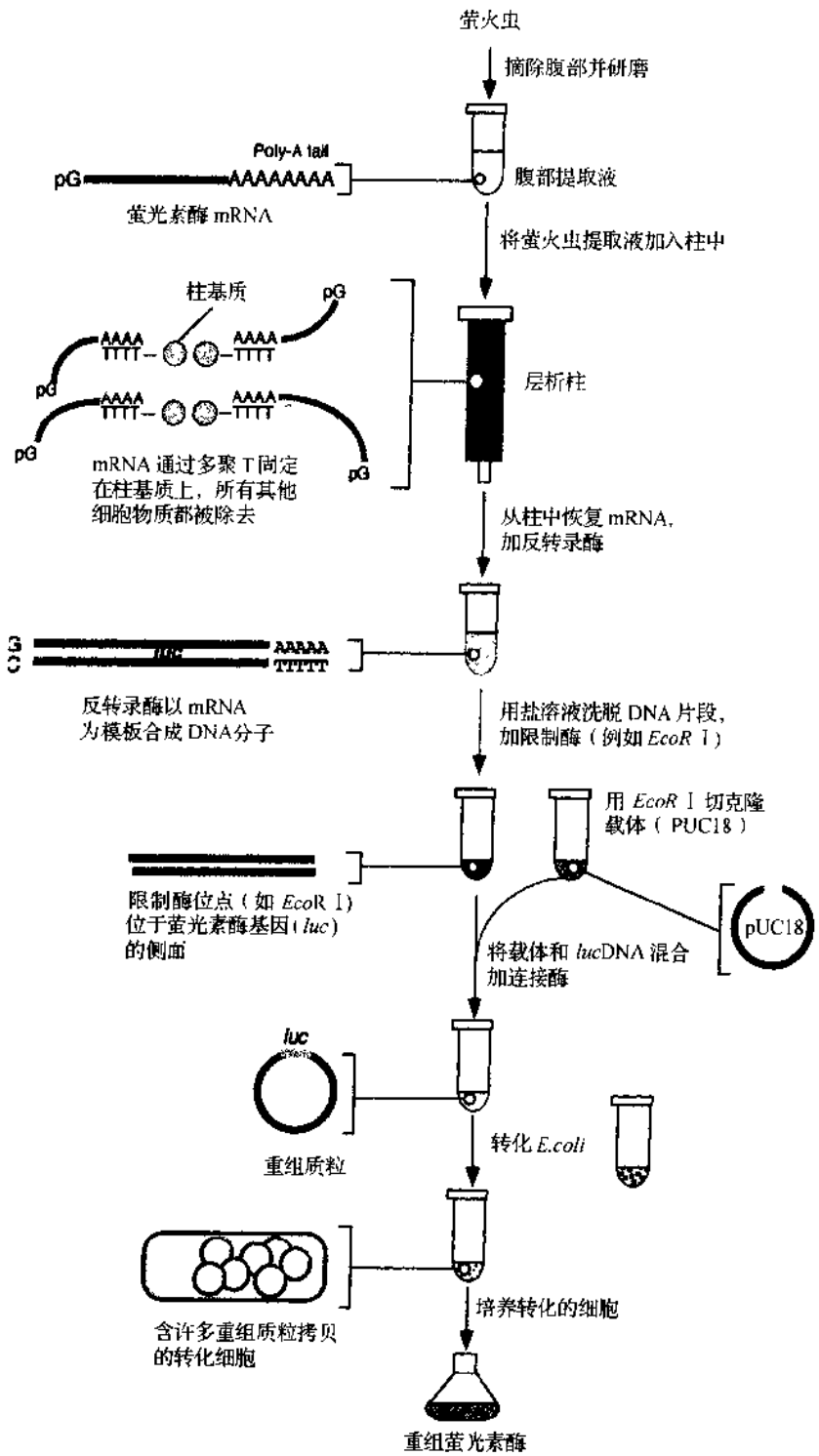


图 8-12　萤光素酶(*luc*)基因克隆到 *E. coli* 内。*Luc* 基因克隆到 *E. coli* 内包括七个步骤。萤光素酶 mRNA 像所有其他真核 mRNA 分子一样具有 polyA 尾，能被层析柱捕获。固定在柱基质上的是 polyT 序列。mRNA 结合到 polyT 上，然后从柱上洗脱下来。利用反转录酶将 mRNA 转变成双链 DNA，DNA 分子用酶 *EcoR* Ⅰ消化。然后，限制酶切 DNA 插入到质粒载体中。用载体去转化细胞，分析萤光素酶产物。用去污剂处理细胞提取萤光素酶并通过特殊层析柱进行纯化。

8.26　为什么酿酒酵母是克隆真核基因合适的寄主？

酵母菌可能是所有真核生物的最佳代表。许多个世纪以来，它被用来制作面包、葡萄酒和

啤酒。实验条件下，酵母菌以单个细胞液体培养也能生长得很好。酿酒酵母染色体组大约有 2×10^7 个碱基对，包含在 17 个线性染色体中。有些菌株具有一种叫做 **2 微米环**(2-micron circle)的质粒，此质粒有 6318 个碱基对，在每个细胞内大约有 50 个拷贝。

8.27　酵母菌是怎样被转化的?

酵母细胞有两种方式被外源 DNA 转化：被完整的细胞摄取(以低效率穿过有孔的细胞壁)和被 **sphaeroplast** 摄取，后者最常使用。sphaeroplast 是这样一种细胞，其细胞通过酶处理几乎将细胞壁全部除去，只留下一个球状细胞被其质膜和少量细胞壁残余包围。一旦 sphaeroplast 形成，酵母菌就易于被外源供体 DNA 转化，但第一步供体 DNA 要和过量 Ca^{2+} 例如 $CaCl_2$ 或 $Ca_3(PO_4)_2$ 混合。Ca-DNA 复合体形成能从溶液中沉淀出来或离心能快速沉淀的微观粒子。当此沉淀和 sphaeroplast 混合并在聚乙二醇存在的情况下，DNA 可以相当容易地通过质膜进入细胞质中，因为膜经过聚乙二醇处理变得更易透过。转化的 sphaeroplast 可涂布在含 3%琼脂的合适的培养基上，加入琼脂是为了使新细胞壁能被合成。

8.28　酵母菌内克隆基因最常使用的载体种类有哪些?

表 8.5 显示了一些酵母菌克隆常规使用的克隆载体。部分载体的构建使得它们能够将克隆基因引入两个或更多寄主中。这样的载体称为**穿梭载体**(shuttle vector)。穿梭载体的复制起始位点能被一个以上寄主细胞的 DNA 复制机制识别。穿梭载体特别有用是因为它们能够转移到原核细胞中，原核细胞比真核细胞更易于生长且复制得更快。

表 8.5　用酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)进行克隆的常用载体

符　号	名　称	功　能
YEp	酵母附加体质粒	含 2 微米环的复制起点。含一个能对抗生素产生抗性的酵母基因。在转化寄主细胞内相当稳定。
YRp	酵母复制型质粒	有一个自主复制序列(ARS)。允许质粒不受染色体控制而进行独立复制。含一个能对抗生素产生抗性的酵母基因。高稳定性。
YCp	酵母中心粒质粒	克隆载体中有称为 cen 的内含物，cen 具有真核着丝粒片段，它能增加质粒的稳定性。似乎在有丝分裂过程中指挥质粒的运动。含一个能对抗生素产生抗性的酵母基因。高稳定性。
YIp	酵母整合型质粒	在酵母细胞转化中有用。整合到寄主染色体组中。含一个能对抗生素产生抗性的酵母基因。高稳定性。

复　习　题

选择题　除非特别指明，选择一个最合适的答案。

1. 基因工程包括下列中的(　　)。　(a)接合　(b)脱氨作用　(c)克隆　(d)核苷酸合成　(e)突变
2. 下列(　　)是克隆所不需要的。　(a)供体 DNA　(b)载体　(c)甲基化酶　(d)限制性内切核酸酶
3. 含有被克隆基因序列的 DNA 被称为(　　)。　(a)载体 DNA　(b)供体 DNA　(c)单链 DNA　(d)RFLP　(e)寄主 DNA
4. 对于从细胞中提取染色体 DNA，下列(　　)是不需要的。　(a)去污剂　(b)蛋白酶　(c)钾离子　(d)有机溶剂　(e)乙醇
5. 从总染色体 DNA 中选择性分离质粒 DNA 涉及(　　)。　(a)去污剂　(b)蛋白酶

(c)钾离子 (d)有机溶剂 (e)乙醇

6. 在 DNA 分子特殊位置切 DNA 的细菌酶称为(　　)。 (a)外切核酸酶 (b)甲基化酶 (c)转移酶 (d)激酶 (e)限制性内切核酸酶
7. 限制性内切核酸酶切 DNA 分子的位置被称为(　　)。 (a)回文 DNA (b)识别序列 (c)黏端 (d)平头末端 (e)限制酶切图谱
8. 当以相同方向阅读时(例如 3′→5′),两条链上的 DNA 分子序列都是相同的,这样的序列称为(　　)。 (a)回文序列 (b)识别序列 (c)黏端 (d)平头末端 (e)限制酶切图谱
9. 限制酶切 DNA 片段可以通过下列(　　)技术进行分离。 (a)气相色谱 (b)电泳 (c)液相色谱 (d)限制酶切作图 (e)离心
10. 在电泳过程中,当 pH 值为 8 时且有电场存在的情况下,DNA 分子在琼脂糖凝胶中的运动是(　　)。 (a)从正极到负极 (b)从一个高浓度区域到一个浓度较低的区域 (c)从低浓度区域到高浓度区域 (d)依赖于缓冲液的离子强度
11. 限制性片段长度多态性的分析涉及下面(　　)两个技术。 (a)电泳 (b)色谱 (c)限制酶消化 (d)甲基化作用 (e)电穿孔
12. 下面(　　)不是描述克隆载体的。 (a)质粒 (b)噬菌体 (c)染色体组 DNA (d)穿梭 (e)表达
13. 下面(　　)特点不是克隆载体所期望的。 (a)控制自身复制 (b)易于从细胞分离 (c)高拷贝数 (d)在几个位置易受到限制酶作用 (e)大小很小
14. 下列(　　)酶将同一个限制性内切核酸酶切的两个 DNA 片段剪接在一起。 (a)连接酶 (b)激酶 (c)甲基化酶 (d)聚合酶 (e)裂解酶
15. 多核苷酸聚合酶在(　　)之间形成共价键将两个 DNA 分子连接在一起。 (a)两个羟基之间 (b)两个磷酸基之间 (c)相反链的互补核苷酸之间 (d)同一条链上相邻核苷酸的两个碳原子之间 (e)在 3′-羟基和 5′-磷酸基之间。
16. 在其他载体中通常不会发现而表达载体具有的序列是(　　)。 (a)核糖体结合部位 (b)*ori* 位点 (c)多克隆位点 (d)抗体抗性标记 (e)识别序列
17. 下面(　　)不是实验室将 DNA 引入寄主细胞的常用方法。 (a)转化 (b)转导 (c)接合 (d)电穿孔 (e)以上答案中有多于一个正确答案
18. 用于克隆的寄主细胞一个重要特征是(　　)。 (a)厚细胞壁 (b)没有生长因子可以生长 (c)严格的生长条件 (d)能够和野生型菌株接合 (e)在自然环境中不能繁殖
19. 下列(　　)真核生物属含有常用克隆寄主细胞。 (a)草履虫属 (b)酵母属 (c)青霉属 (d)*Spirogyra* (e)裸藻属
20. 下面(　　)离子是将 DNA 引入酵母细胞所必需的。 (a)钠 (b)钾 (c)镁 (d)钙 (e)锌
21. sphaeroplast 缺乏下列(　　)细胞成分。 (a)内质网 (b)核糖体 (c)完整的细胞壁 (d)细胞骨架 (e)细胞核
22. 能够用来将 DNA 从真核细胞转移到原核细胞的克隆载体是(　　)。 (a)表达载体 (b)可动遗传因子 (c)穿梭载体 (d)噬菌体 (e)转座子
23. 下面(　　)酵母质粒有自主复制序列。 (a)YEp (b)YRp (c)YCp (d)YIp (e)pUC
24. 下面(　　)酵母质粒有真核着丝粒区域。 (a)YEp (b)YRp (c)YCp (d)YIp (e)pUC
25. 下面(　　)酵母质粒能整合到寄主染色体中。 (a)YEp (b)YRp (c)YCp (d)YIp (e)pUC

是非题 正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 基因工程通常将 DNA 引入和 DNA 来源的物种相同的寄主中。

2. 克隆主要就是将重组体DNA片段引入到寄主细菌中。
3. 为了克隆供体DNA，DNA必须是双链的。
4. 插入到克隆载体上的供体DNA通常是通过限制性内切核酸酶从供体基因组上移除下来。
5. 为了溶解膜，去污剂被用来提取基因组DNA。
6. 有机溶剂(如酚或氯仿)被用于沉淀克隆用的质粒DNA。
7. 选择性沉淀基因组DNA从而获得纯的质粒DNA样本需要使用钾离子。
8. 乙醇被用于从水溶液中沉淀DNA。
9. 除了末端可以在任一位置切DNA的酶称为限制性内切核酸酶。
10. 限制性内切核酸酶类型Ⅱ经常在特殊识别位点回文序列处切DNA。
11. 回文序列就是在同一条链上无论从5′→3′还是从3′→5′方向阅读都是相同的DNA分子片段。
12. 限制酶切作图可以只用一个限制性内切核酸酶完成。
13. 限制酶消化产物可通过电泳分离。
14. VNTR图的鉴别需要限制酶和琼脂糖凝胶电泳。
15. 因为DNA分子在主链上具有总的负电荷，所以在电泳中它向阳极移动。
16. 在相同的电泳条件下，较大分子比较小分子运动得快。
17. 为了确定每个限制酶切的相对位置，限制酶切作图需要进行单个和双个酶消化。
18. VNTRs是染色体DNA非编码区的多态性位置。
19. 载体DNA作为媒介将外源DNA引入寄主细胞中，从而寄主细胞可以复制外源DNA。
20. 克隆载体包括噬菌体、穿梭载体、表达载体和质粒。
21. 酵母菌常用于克隆真核基因。
22. 能够调节自身复制并产生高拷贝数的质粒是好的克隆载体。
23. 一个好的克隆载体易于通过接合转移到野生型细菌中。
24. 表达载体缺乏核糖体结合部位和启动子部位。
25. YIp质粒能整合到寄主染色体中的特点是不可取的。

匹配题　将A栏中每一个项目与B栏中的一个项目相配对，使其具有最密切的联系。B栏中的每个项目只能用一次。

A　栏	B　栏
1. 质粒	A. 识别序列
2. 载体	B. 溶解质膜
3. 限制酶(RE)切位点	C. RE在识别序列的中间切
4. 穿梭载体	D. 选择性分离质粒DNA
5. 澄清裂解液	E. DNA分子的自我复制
6. Triton X-100	F. 非编码区多态性
7. K^+	G. 限制酶切作图
8. 回文序列	H. 除去钾离子和细胞碎片后的残留物
9. 平头末端	I. 具有核糖体结合部位
10. 电泳	J. 共价连接两个DNA分子
11. 双消化	K. 将DNA引入寄主细胞的媒介
12. VNTR	L. 两条链上相同的序列(5′→3′)
13. 表达载体	M. 在两个寄主间移动DNA
14. 高拷贝数	N. 按大小将DNA分子分开
15. DNA连接酶	O. 克隆载体的一个期望的特点

术语 除非特别指明，每个答案为一个词。

1. DNA 片段插入到质粒或噬菌体中然后复制出无数插入物拷贝的过程。
2. 在克隆实验中被克隆的 DNA。
3. 在从细胞提取染色体组 DNA 时用于溶解膜的物质。
4. 膜被溶解后，分裂的细胞混合物的名字。
5. 通过快速转动一个玻璃棒从水-醇界面处取出染色体组 DNA 的过程。
6. 加入醋酸钾并离心除去染色体组 DNA 和细胞碎片后得到的溶液。（两个词）
7. 在特殊位置切 DNA 的酶。（两个词）
8. 限制酶切双链 DNA 的位置。（两个词）
9. DNA 分子两条链以相同方向（例如 5′→3′）阅读都是相同的双链 DNA 序列。
10. 两个或更多限制酶识别位点的图表示法。（两个词）
11. 限制酶切片段被分开所使用的技术。
12. 在电场中，DNA 分子朝着这个极移动。
13. 以 mRNA 为模板，使用反转录酶合成的 DNA 分子的名称。
14. 检测独特 DNA 染色体片段的 DNA 指纹技术。（四个词或四个字母的缩写词）
15. 分离自不同细菌但却有相同的识别位点的限制酶。
16. 用来将外源基因引入到寄主细胞中 DNA 分子。
17. 用来修饰具有核糖体结合部位和启动子部位的载体的形容词。
18. 用来修饰将剪接的 DNA 转移到真核或原核寄主细胞中的载体的形容词。
19. 当重组体细胞形成时，一个易于检测的表型被除去的过程。（两个词）
20. 克隆常使用的载体类型（指每个细胞的载体分子数）。（三个词）
21. 无论在自然或实验中，质粒克隆载体都可从一个细胞转移到另一个细胞的过程。
22. 通过在一个分子的 3′-羟基和其他分子的 5′-磷酸基间形成共价键从而剪接两个 DNA 分子的酶。
23. 可被用来将重组体 DNA 分子引入细胞的高电压。
24. 在酵母细胞内可发现的一类质粒。（二至三个词）
25. 允许质粒不受染色体控制且能独立进行复制的一个 YRp 质粒片段。（三个词）

答　案

选择题

1. c **2.** d **3.** b **4.** c **5.** c **6.** e **7.** b **8.** a **9.** b **10.** b **11.** a&c **12.** c **13.** d **14.** a **15.** e **16.** a **17.** c **18.** e **19.** b **20.** d **21.** c **22.** c **23.** b **24.** c **25.** d

是非题

1. F（这可以，但通常 DNA 来自一个外源细胞） **2.** F（克隆是为了复制引入的 DNA 片段） **3.** T **4.** T **5.** T **6.** F（用来除去蛋白质） **7.** T **8.** T **9.** F（不是所有的内切核酸酶都是限制性内切核酸酶） **10.** T **11.** F（相反链以相同方向阅读） **12.** F（限制酶切作图需要两个或更多酶） **13.** T **14.** T **15.** T **16.** F（更慢） **17.** T **18.** T **19.** T **20.** T **21.** T **22.** T **23.** F（接合转移是克隆载体所不希望的特点） **24.** F（它们同时具有启动子部位和核糖体结合部位） **25.** F（它实际上是一个希望的特点）

匹配题

1. E **2.** K **3.** A **4.** M **5.** H **6.** B **7.** D **8.** L **9.** C **10.** N **11.** G **12.** F **13.** I

14. O　**15.** J

术语

1. 克隆　**2.** 供体　**3.** 去污剂　**4.** 裂解物　**5.** 缠绕　**6.** 澄清裂解液　**7.** 限制性内切核酸酶　**8.** 识别位点　**9.** 回文序列　**10.** 限制酶切图谱　**11.** 电泳　**12.** 正极(阳极)　**13.** cDNA　**14.** 限制性片段长度多态性(RFLP)　**15.** 同切点酶　**16.** 载体　**17.** 表达　**18.** 穿梭　**19.** 插入失活　**20.** 高拷贝数　**21.** 转化　**22.** 连接酶　**23.** 电穿孔　**24.** 2 微米环　**25.** 自主复制序列

第9章 核酸操作

导　言

在过去的20年里，分子生物学的应用几乎渗透到自然科学的各个领域。如DNA杂交、核酸测序、以及聚合酶链反应之类的技术，从进化论到法庭辩论，从生物技术到医疗诊断，革命性地改变了基础科学和应用科学。本章将讨论一些最重要的与核酸有关的技术原理和应用。

核酸杂交

9.1 什么是DNA杂交?

随着遗传工程和分子生物学的发展，一个很有用的工具——**DNA杂交**(DNA hybridization)出现了。在实验室里，这个技术被用来检测临床样品中病原体DNA的存在以及在细胞中定位特定的基因。在合适的温度、pH值和离子浓度下，互补的两条核酸单链分子将形成稳定的双链分子——DNA杂交正是基于核酸的这一特性。

在DNA杂交分析时，源于病毒或细胞的DNA在碱性环境下变性，由双链解开为单链。然后这些单链吸附在固相支持物(如硝酸纤维素膜或尼龙膜)上，以便它们之间不会复性(图9-1)。变性的DNA通过其核糖上的磷酸与膜上突出的含氮基团间形成键而吸附着在膜上。

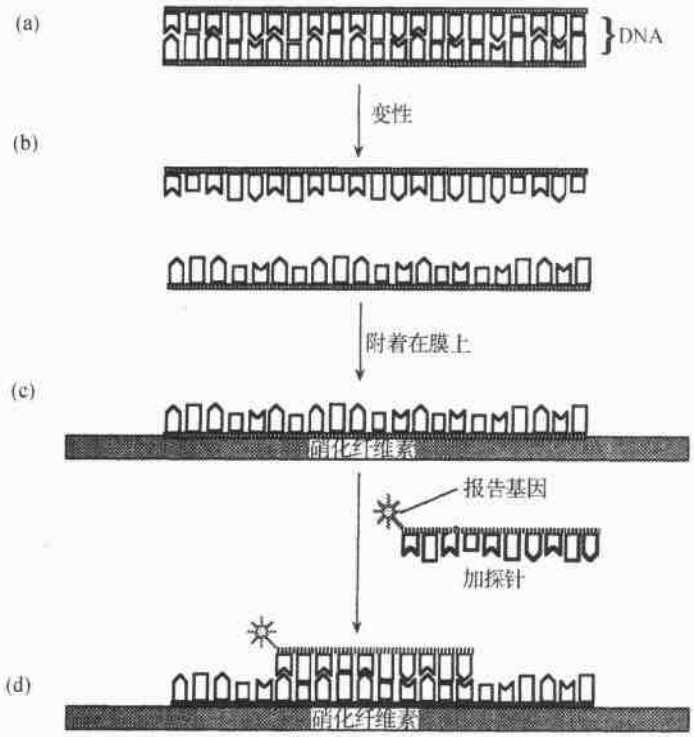


图9-1　DNA杂交。当一个DNA分子(a)被加热到熔点温度以上或处于碱性环境下，它就会变性并且双链分开(b)。用烘箱烘烤或紫外线照射使这些单链DNA附着在固相支持物(如硝酸纤维素膜或尼龙膜)上(c)。加入含有标记分子的探针并使其与膜上的靶DNA反应几个小时(d)。在未反应的探针被洗掉后，通过酶法、荧光法或放射自显影检测连结在杂交探针上的标记分子。

为了鉴定或识别靶 DNA，一段已知的单链 DNA 或 RNA，也即**探针**(probe)，在有利于互补碱基间形成氢键的缓冲液里加到膜上，探针——这样叫是因为其目的是用来寻找或检测 DNA 序列——被标记上一种**标记**(reporter)基团，标记基团可以是放射性原子也可以是酶，总之应很容易检测到其存在。

探针在合适的条件下与靶 DNA 发生反应，多余的未反应的探针在随后的缓冲液洗涤中被除去。洗脱后，留在膜上的只有靶 DNA 和能与其序列互补而形成稳定杂交的探针。

靶和探针 DNA 之间的杂交可通过分析探针标记而进行检测。如果检测到标记，也即发生了杂交。如果没有检测到标记，那就可以假定靶 DNA 与探针之间没有互补序列，也就是说，所要寻找的基因或 DNA 片段在样品中不存在。

9.2　DNA 杂交分析包括哪些组成部分?

DNA 杂交分析主要有四个组成部分。它们分别是：靶 DNA、探针、检测系统和杂交体系。

9.3　在杂交分析中，靶 DNA 分子最重要的特征是什么?

DNA 杂交分析的目的是为了检测在生物体基因组中或感兴趣的 DNA 分子中独特的核酸序列的存在，这些核酸序列代表了靶 DNA 分子。靶分子可以是 DNA 片段或者一个染色体，一个质粒的整个分子或者仅仅是 mRNA 或 rRNA。靶 DNA 分子必须具有独特的，连续的序列存在于分子全长内，并且能与其他相似的序列区别开。

为了使杂交能被检测到，样品中必须存在一定量靶 DNA 分子。因此，在细胞中存在多个拷贝的靶 DNA，如编码核糖体 RNA 的序列、插入序列、或质粒中的序列，是杂交分析中最主要的候选者。如果待测的靶 DNA 在单倍体细胞中只存在一个拷贝，就得使用其他的杂交检测方法来提高检测水平。

9.4　什么是核酸探针?

核酸探针是连有指示基团并可以与靶 DNA 中的互补序列特异性结合的 DNA 或 RNA 分子。探针既可以是与 DNA 也可以是与 RNA 互补并可从 20 来个碱基到几千个碱基长。**寡核苷酸探针**(oligonucleolide probe)(长度为 20～50 个碱基)可以以任何序列化学合成。

9.5　寡核苷酸探针有何优点?

由于寡核苷酸探针相对较短，能与靶 DNA 快速杂交(有时只需几分钟)。探针分子与靶 DNA 杂交的时间($C_0t_{1/2}$)取决于探针浓度 x(μg/ml)，探针复杂程度 y，和反应体积 z(ml)。$C_0t_{1/2}$时间可以用以下公式计算：

$$C_0t_{1/2}=[2(1/x)(y/5)(z/10)]$$

从上式可以看出，探针的复杂程度越小(也即碱基数越少)，杂交时间 $C_0t_{1/2}$也就越短。

寡核苷酸探针还有一个优点是在高**严紧性**(stringency)反应条件下，可以检查出单碱基的变化。这个特点在检验基因中的点突变时或区分两个相似的 DNA 分子时特别有用。

9.6　什么是杂交反应的特异性?

特异性是一个术语，用来描述杂交反应中存在着错配但又能保持双链杂交的错配碱基数。杂交条件的特异性越强，使双链不分开的错配碱基数就越少。特异性受杂交温度，杂交液的盐浓度，杂交反应的 pH 值的影响，这三个条件影响分子的双链结构的稳定性。高特异性通常通过高温(接近 DNA 杂交的熔点温度)和低盐(<0.1mol/L)来达到。氯化钠(NaCl)在溶液中离解形成 Na^+ 和 Cl^-，其中 Na^+ 与 DNA 分子链上的负电荷结合，能削弱双链之间的排斥力。因此，高盐浓度有利于稳定双链分子并使得双链在分开之前可以存在更多的错配。杂交反应中溶液的 pH 值也会影响杂交的稳定性，在弱酸(pH6～7)环境下，由于增多的 H^+ 有利于减少

双链间的排斥力因此 DNA 分子会更稳定。过高的 H^+ 浓度会通过脱嘌呤作用而破坏 DNA 分子。

9.7 标记分子及其功能是什么?

标记分子是共价连接在核酸探针上的化学基团,并用来指示在靶 DNA 上杂交探针的存在。由于对它的检测表明杂交的存在与否,因此标记分子在分析中是一个很重要的角色。

早期的研究者使用放射性磷(^{32}P)作为标记分子,并用放射自显影或液闪记数器来检测其存在。然而现在,由于放射性同位素操作和处理过程中的危害,放射性标记分子已不再受到重用。非放射性标记分子包括酶类如碱性磷酸酶、**荧光分**子(fluorescent)如异硫氰酸荧光素、化学发光标记物、**抗原**(antigenic)基团,以及**亲和标记**(affinity label)如生物素。这些标记优点是无害并可以安全地处理。但这些分子用来进行杂交分析的灵敏度比放射性标记要低。

标记分子作为三磷酸核苷酸的一部分可以用许多种酶连接到核酸探针上——例如**末端转移酶**(terminal transferase)(在探针 3′端增加核苷酸),**多核苷酸激酶**(polynuclestide kinase)(在探针 5′端增加核苷酸),DNA 聚合酶 I(从缺口 DNA 除去几个碱基并替换为带标记的核苷酸)——和光化学反应。酶类则是共价连到探针的 3′端或 5′端。

9.8 如何检测非放射性标记分子?

生物素的亲和标记自身不能被检测到。首先,靶-探针杂交复合物与**链霉亲和素**(streptavidin)(一种与生物素有很强结合性的分子)溶液混合,该亲和素上已有酶连,通常是碱性磷酸酶。一个发色或发荧光的该酶的底物被加入来检测杂交。当连在靶 DNA -探针杂合物上的酶与底物反应时,就产生了一种带颜色的物质并能很容易地被比色计或目测检测到(图9-2)。

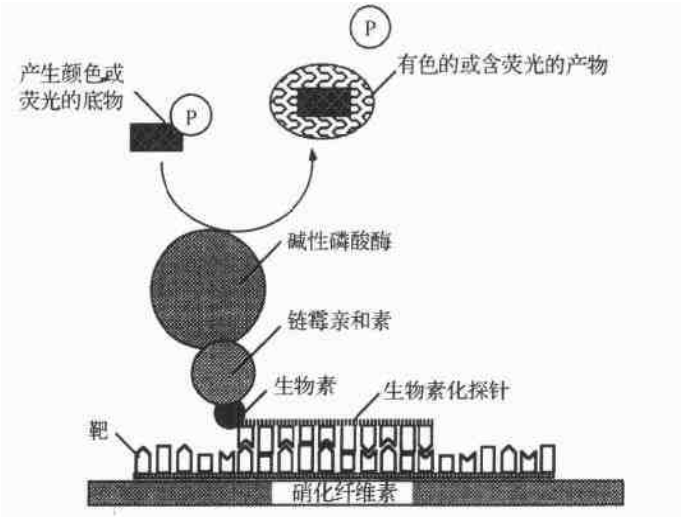


图 9-2 使用生物素作为探针和碱性磷酸酶作为标记分子的检测系统各组成部分。单链靶 DNA 与硝酸纤维素膜结合。生物素标记的探针加入并与靶 DNA 上的互补序列杂交。经过合适的杂交时期后,含有碱性磷酸酶—链霉亲和素 (SA-AP) 的溶液加入温育 30~40 分钟。这段时间链霉亲和素与探针上的生物素 (biotin) 结合,形成生物素- SA-AP 复合物。冲洗几次以除去未结合的 SA-AP 后,加入在碱性磷酸酶作用下能显色或显荧光的底物。碱性磷酸酶与底物反应,生成带色或带荧光的产物,使杂交能被从视觉上观察到。

化学发光(chemiluminescent)如吖啶酯是暴露在特定激发物质下能发光的化学基团。在典型的分析中,当杂交完成,激发物被加入,然后将一张 X 光片与杂交膜叠放在一起。化学发光标记分子发出的光使胶片感光而形成影像。使用微光计也可用来计量标记分子的发光量。

荧光标记分子常用荧光计来检测其受紫外光激发后的荧光量。这些标记可用作定量分析。由于发出的荧光量与结合的探针量成正比,可据此粗步估量 DNA 量或杂交程度。

9.9　DNA 杂交的形式影响杂交分析的时间和杂交检测的方式。那么，常用的核酸杂交分析有哪些形式呢？

核酸杂交分析既可在溶液中（液相）也可在固相支持上进行。在**液相杂交**（liquidphase hybridization）中，靶核酸和探针都在溶液中相互自由地反应。探针必须是单链以免自身互补结合。这种情况下的杂交速率非常快。杂交探针的检测要求使用**羟基磷灰石柱**（hydroxyapatite）（能与双链 DNA 特异结合）对双链 DNA（探针杂合体）的选择性捕获。整个溶液先用 **S1 酶**处理消化单链 DNA。处理后只留下双链的探针-靶杂交物。这些双链分子被羟基磷灰石吸附然后洗脱下来，并用来检测探针上的标记分子。

在**固相杂交**（solid-phase hybridization）分析中，靶核酸或探针结合在固相支持物上，如硝酸纤维素膜、尼龙膜、多孔培养板或树脂微粒的聚苯乙烯表面。一种最常用的分析方法包括使靶 DNA 附着到硝酸纤维素膜上并进行 DNA 的碱变性（双链 DNA→单链 DNA）；膜上结合的

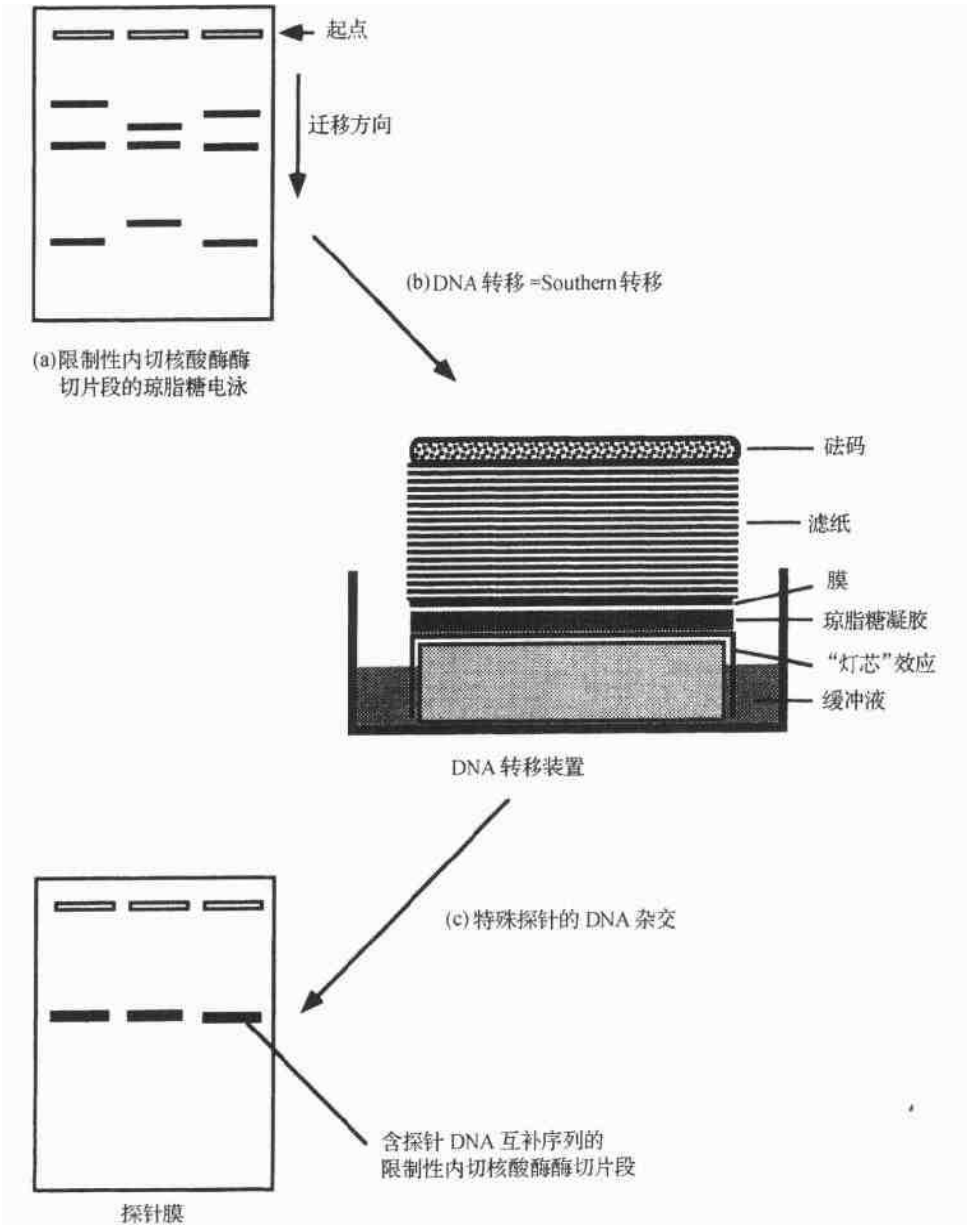


图 9－3　Southern 杂交的步骤。在 Southern DNA 杂交中，待测 DNA 先被合适的限制性内切核酸酶酶切，然后通过琼脂糖电泳将酶切片断分开（a）。通过毛细作用，这些片断从凝胶里被转移到硝酸纤维素膜或尼龙膜上（b）。通过膜上的 DNA 与合适的探针杂交来检测目标 DNA(c)。

DNA 与探针反应；然后整个地洗膜除去未结合的探针，最后对膜上的标记分子进行分析以检测杂交的发生。

9.10 固相杂交分析的三种形式：斑点印迹法、Southern 杂交、原位杂交。下面介绍斑点印迹。

在**斑点印迹**(dot blot)分析(点杂交)中，一定体积的样品被点在一片硝酸纤维素膜上，这斑点干燥后用碱性溶液(如 0.2mol/L NaOH)处理裂解微生物细胞并使其 DNA 分子变性。处理后，样品被中和成中性然后在 80℃的杂交炉里烘烤 20 分钟。烘烤确保单链 DNA 紧附在硝酸纤维素膜上。烘烤后，膜在放射性标记的探针溶液里反应 2～12 小时，然后，将膜洗几次以除去未反应的探针并晾干。

在暗室里，将一张对放射性敏感的感光底片(如 X 光片)平铺在膜上，并在暗室或暗盒里放置 12～24 小时，然后，胶片进行显影，检查感光的黑点。有黑点表示样品含有与放射性探针杂交的 DNA 序列，也即，所寻找的靶 DNA 存在于样品里。如果膜上没有黑点，那就表示没有 DNA 杂交发生。

由于理论上(实验上也常这样)杂交分析很灵敏且对 DNA 序列具特异性，因此这种检测方法在临床实验室里很受欢迎。**灵敏度**(sensitivity)是可检测的最少量的靶序列的一个量度。少量的细胞或病毒很难通过生化、染色或免疫方法检测出来。在这些情况下，很有必要采用灵敏的方法，比如 DNA 杂交，来检测靶 DNA。

9.11 Southern 杂交

Southern 杂交(Southern hybridization)(Southern 印迹法)(图 9-3)在杂交分析前先对待测 DNA 进行限制性内切核酸酶消化和琼脂糖凝胶电泳。在琼脂糖胶上的不同条带通过毛细作用转移到硝酸纤维素膜或尼龙膜上，其中的每条 DNA 带都转移到膜上与其在凝胶上相对应的位置。转移结束后，靶 DNA 的分析方法跟斑点印迹法一样。

9.12 原位杂交

原位杂交(in situ hybridization)分析是对固定在载玻片上完整的细胞或组织切片进行的检测。这种固相检测方法的优点是它不仅能检测完整细胞的 DNA，还能检测出该 DNA 在组织中的分布。原位杂交的一个重要用途是用来检测被感染的细胞中的病毒和特定细菌。

聚合酶链反应

9.13 什么是聚合酶链反应？

遗传物质的复制是由 DNA 聚合酶来完成的，该酶从结合在模板上的引物开始合成 DNA(见第 3 章)。引物通常有 9～20 个碱基并决定了 DNA 复制开始的位置。通过**聚合酶链反应**(polymerase chain reaction，**PCR**)，只需选择好能包含目的 DNA 片段的引物，任何遗传物质的特定片段可被钓出并进行大量的复制。PCR 的进行基于两条已知组成的寡核苷酸(引物)与感兴趣的靶序列复性和在聚合酶作用下的寡核苷酸延伸，每次这样的反应在变性后重复，产生以指数增长的放大。

聚合酶式反应包括不同温度的三步并重复 20～50 次，包含三步的一次重复叫做**一个循环**(cycle)。链反应的第一步，即**变性**(denaturation)，DNA 被加热到 94℃使得其双链打开(变性)，破坏了碱基间的氢键，生成两条单链。第二步，即**退火**(annealing)，两条引物与单链上的互补序列杂交。引物很短(20～30 碱基长)，是合成的一小段单链 DNA，它们被选择为一条引物能与感兴趣的基因的一条链一端互补，第二条引物则与另一条链相对的那一端互补。引物与其互补序列之间形成氢键(退火)，成为稳定的双链分子。退火温度范围在 37～60℃之间。第三步，即**延伸**(extension)，引物在 72℃聚合酶作用下延长。

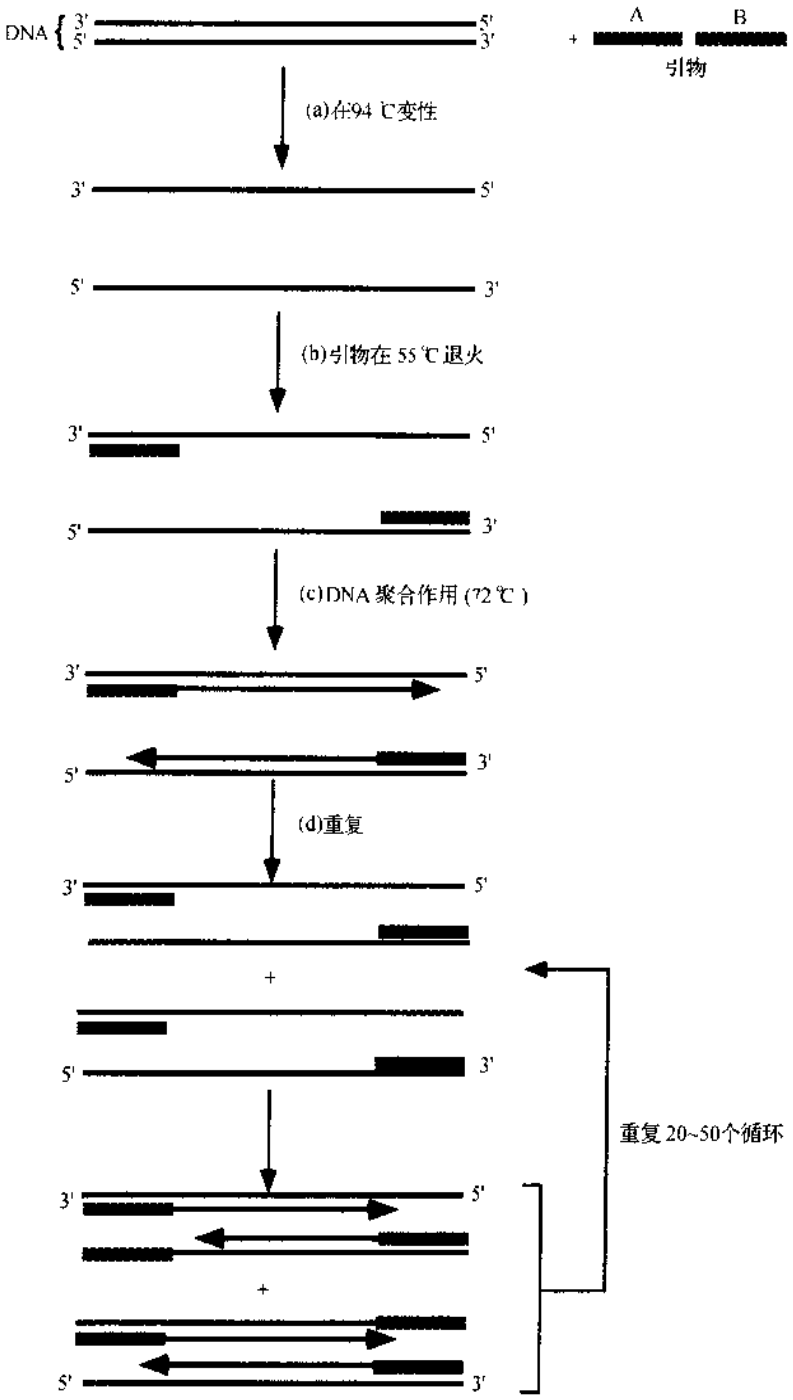


图 9-4　典型 PCR 分析的图解表示法。PCR 分析是通过不断重复使用温度循环获得引物指导的目标 DNA 片段的酶扩增物。首先，靶 DNA 热变性(a)。冷却时，目标 DNA 片段侧面的引物杂交到互补的靶上(b)，然后从引物开始的 DNA 合成发生(c)。这些步骤重复(d)20～50 次以获得大量目标 DNA 片段。

在一个典型的 PCR 反应中，所有所需的成分都在反应一开始加入。因此，一旦循环开始，不必为再加其他试剂而停止反应。反应混合物含有过量的引物和核苷三磷酸，以免成限速反应。在一个典型的 PCR 反应中，引物和靶序列的比例在反应一开始是 $10^7:1$。

每个循环要重复 20～50 次，以便得到两引物之间的靶 DNA 片段的指数合成。PCR 的产物(即靶片段的上百万次拷贝)被叫做**扩增产物**(amplicon)。每一次循环，模板数加倍，因此如果一开始只有一份双链 DNA 分子，20 个循环后 PCR 合成的分子数就是 1×10^6，而 30 个循环后增至 1×10^9，这个值可按如下计算：

$$M_f=M_i\times2_n$$

式中 M_i 表示初始分子数(模板),M_f 表示最终 PCR 产物,n 是总共进行的循环数。

9.14 是否任何 DNA 聚合酶都可用于 PCR 反应?

为了忍受反应时重复的 94℃高温,用于 PCR 反应中的 DNA 聚合酶应该是耐热的。在 1981 年最初发明 PCR 时,还没有耐热的 DNA 聚合酶可用。在进行放大时使用的是从大肠杆菌 (Klenow 酶) 或噬菌体(测序酶)中提出的 DNA 聚合酶。由于加热时酶会失活,在每次热循环周期的 94℃后,都要重新加入酶。1985 年后,几种高温聚合酶被分离出来(表 9.1),使得整个反应混合物(包括 DNA 聚合酶)可以在反应一开始就加入,而不需每个周期再加酶。有一个这样的酶——也许是 PCR 最常用的酶——即 *Taq* 酶。*Taq* 表示这个酶是从嗜热菌 *Thermus aquaticus* 中分离出来的。该酶的一些特性总结在表 9.2。耐热酶的发现使得使用加热块在特定时间加热和冷却来进行 PCR 自动合成变得很容易。

表 9.1 PCR 中使用的一些 DNA 聚合酶

酶	微生物来源	耐热性
Kelnow	*Escherichia coli*	否
Sequenase®	T7 bacteriophage	否
Taq	*Thermus aquaticus*	是
BstE	*Bacillus stearothermophilus*	是
Pfu	*Pyrococcus furiosus*	是
Tth	*Thermus thermophilus*	是
UlTma	*Teratoga maritima*	是

表 9.2 Taq 聚合酶的特征

特征	描述
来源	*Thermus aquaticus* strain *YT1*(栖热水生菌株 *YT1*)
分子质量	94 kDa
最适温度	72～80℃
活性	150 核苷酸/(秒·分子)
稳定性	95℃、40 分钟,75%
保真性	每循环 1.1×10^{-4} 取代
Mg^{2+} 浓度	>0.5mmo./L<10mmol/L
核酸外切酶活性	只由 5′到 3′
转移酶活性	5′腺苷

9.15 影响聚合酶链反应(PCR)的各种因素。

虽然 PCR 的理论简单而巧妙,实际的应用还是要比想像的复杂得多。好几个因素影响 PCR 的得率。表 9.3 总结了一个典型的 PCR 反应的条件。表 9.4 则列出了一个典型的 PCR 温度曲线。

表 9.3 典型 PCR 分析的反应条件

参数	浓度
模板	10 阿摩尔(attomoles,～1×10^6 分子)
pH	8.4(10mmol/L Tris-HCl)
dNTP	200 μmol/L(每种)
明胶	100 g/ml(任选)
引物	0.5 μmol/L(每种);(0.1～1.0 μmol/L)
Mg^{2+} 浓度	>0.5 mmol/L<10 mmol/L
酶	1 单位
总体积	25～100 μl

表 9.4　典型 PCR 程序

程序	94℃ （第一步）	37～60℃ （第二步）	72℃ （第三步）	表示
循环 1	1 min	1 min	1 min	1×
循环 2～30	1 min	1 min	1 min	29×
循环 31*	1 min	1 min	10 min	1×

* 为了使任何前一次扩增"未完成"的产物达到其完整的长度，PCR 分析应含有这个循环。

温度曲线，同合适的试剂浓度一起，决定了 PCR 的特异性。由于反应的温度决定引物与模板杂交的特异性，较低的温度使得在 DNA 分子的许多位点发生错配，而不仅仅是在所希望的地方。因此，刚开始开展 PCR 工作时，要先作一个温度优化的实验来确定最佳的温度，以便得到最佳引物退火和最大扩增产物量。

PCR 反应溶液中最重要的是 Mg^{2+} 浓度、引物、脱氧核苷酸和酶。已经知道 Mg^{2+} 浓度影响引物配对的特异性和引物的延伸。最合适的 Mg^{2+} 浓度在 1.5～3.0mmol/L 之间。超过 3.0mmol/L太多的 Mg^{2+} 浓度会导致非特异性扩增而低于 1.5mmol/L 会导致无产物合成。

引物浓度在 0.1～1.0μmol/L 也很关键，这个范围适合大多数 PCR 反应。引物浓度一定要比模板浓度大大过量，因为扩增中缺乏足够的引物会减慢反应速率。引物浓度超过 1μmol/L又太多，浪费昂贵的试剂。表 9.5 和表 9.6 列出了在扩增前和对人基因组中 1000bp 的一条片断扩增 1 000 000 倍后试剂的浓度变化。你可注意到即便是使用 0.1μmol/L 浓度的引物，大多数的引物也没被用掉。

表 9.5　PCR 的化学计量分析（初始状态）

参数	量	pMoles*	浓度	比率**
人 DNA	1μg	5×10^{-7}	5 fmol/L***	1
定义的 1 kb 片段	0.3pg	5×10^{-7}	5 fmol/L	1
每种引物	65 ng	10	0.1 μmol/L	2×10^{7}
每种 dNTP	11.5μg	2×10^{4}	200 μmol/L	4×10^{10}
Taq 聚合酶	2 单位	0.1	1 nmol/L	2×10^{2}

* pMoles=picomoles=1×10^{-12}摩尔。

** 与基因组模板的比率。

*** 1 fmol/L=1×10^{-15}mol/L。

表 9.6　PCR 化学计量分析（10^6 扩增后的状态）

参数	量	pMoles*	浓度	比率**
人 DNA	1 μg	5×10^{-7}	5 fmol/L***	1×10^{6}
定义的 1 kb 片段	300 ng	5×10^{-7}	5 fmol/L	1
每种引物	62 ng	10	0.095μmol/L	19
每种 dNTP	11.4μg	1.98×10^{4}	198μmol/L	4×10^{10}
Taq 聚合酶	2 单位	0.1	1 nmol/L	0.2

* pMoles(=picomoles)=1×10^{-12}摩尔。

** 与基因组模板的比率。

*** 1 fmol/L=1×10^{-15}mol/L。

核苷三磷酸(dNTP)浓度常定在 200μmol/L，酶活性也是在次浓度下定义的。相比引物而言，dNTP 的浓度更是大大过量。由于在反应完成时其浓度基本上保持不变，dNTP 不会影响反应速度，也即聚合反应以最高速度进行。

在 100μl 反应混合液中的一个单位定义的 *Taq* 酶表示酶浓度为 1nmol/L。在 1nmol/L 的浓度下，即便是进行上百万次的反应时，仍然有足够的酶闲着，因此，反应速率也不受酶浓度的影响。

9.16 扩增产物如何检测?

PCR的最终产物是上百万份两引物之间DNA片段的拷贝。一个通常的检测PCR产物的方法是通过琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳。取一小部分(1～5μl)PCR产物加到琼脂糖凝胶(如2%的琼脂糖)的上样孔中并进行电泳。结束后,凝胶用溴乙锭(该物质能与扩增产物交联并在紫外激发下发橘红色荧光)的溶液染色,并在透射式紫外灯下观察结果。在略带蓝紫色的背景里,扩增产物是明显的橘红色条带。通常,产物的长度用**分子质量标准**(molecular-weight standard)来估算。含有已知长度的DNA片段的溶液与产物一起走电泳,以比较产物的长度。用高速底片对凝胶拍照,并用来测量条带的长度位置和强度。现在有了计算机辅助的程序,可不需要摄影就可以确定扩增产物的分子质量。

扩增产物也可用杂交来检测。在检测中,产物被当成靶DNA;用产物内部的一段序列的互补寡核苷酸作为探针。然后使用前面描述的杂交形式来检测产物的存在。

9.17 有一种方法叫做连接酶链反应,对靶DNA分子进行的酶促放大。这种方法的原理和应用是什么?

连接酶链反应(ligase chain reaction, LCR)是利用与模板上相邻位点互补的两条寡核苷酸之间的连接反应的方法(图9-5)。使用两对相邻的引物而不是PCR中的一对引物来得到指数扩增。一对引物(1,2)与上链互补,另一对引物(3,4)与下链互补。反应时,在一个初始的变性步骤后,两对引物与靶分子上相应的互补序列在特异性环境下退火。由于两上下引物各与另两连续,热稳定连接酶能将这两个连续的引物共价连接成长度为两引物之和的一个长引物。由于同样的连接反应同时在两条链上反应,可产生双链的产物。许多次的变性,引物退火,和引物连接可最终得到上百万的LCR产物,并可用电泳或DNA杂交来检测。

LCR要求上下两对引物在全部长度上互补,特别是在两引物衔接的地方。如果该条件不能满足,两个引物就不能连接起来而且不会生成产物。由于放大过程是依赖于靶序列的不断增多,除非两引物在靶分子末端对末端地退火,LCR产物就不能被检测到。因此,LCR在检测特定位置的突变时特别有用。在这种应用中,一对引物设计成与突变点互补的碱基正好在左边引物(图9-5的引物1)的3′端或在右边引物(图9-5的引物2)的5′端。那么,野生型就会与某一端的引物有一个错配,不会被连接和放大。而突变型的就能与引物完全配对并被连接和放大。

9.18 RNA能作为靶序列被酶促放大吗?

是的,有好几种策略常用来放大RNA的靶序列。其中一种是**RT-PCR**。RT-PCR包括使用反转录酶将RNA拷贝成DNA,该DNA再进行标准的PCR反应。在这种方法中,从细胞或病毒中抽提出来的RNA首先被变换成cDNA(互补DNA)。这一步完成后,加入含有PCR所需成分的反应混合物并进行反应。cDNA靶序列用*Taq*聚合酶放大,产物用前面所描述的方法检测。现在已有热稳定的反转录酶(RTth),既可以从RNA合成cDNA又可以接着在PCR的温度周期循环中扩增cDNA的片断。

还有一个基于RNA的扩增体系,利用了噬菌体RNA聚合酶的特异性和它们相应能识别的启动子。这些基于噬菌体RNA聚合酶的反应有一步是从靶序列中转录许多份RNA的拷贝。一个这样的系统被称为**基于转录的放大系统**(transcription-based amplification system, TAS)。TAS反应的第一步从样品中每份核酸分子中产生一份单链DNA的拷贝。由于用于cDNA反应的引物上含有RNA聚合酶的启动子,产生的cDNA可被转录。第二步则将该cDNA作为模板转录成许多份拷贝的RNA。作为这种方法放大倍数的一个例子,Kwoh及其同事用TAS在感染细胞中检测人免疫缺陷病毒1型(HIV-1)。仅使用了四次TAS扩增就得到初始靶分子数2.5×10^6倍的扩增。

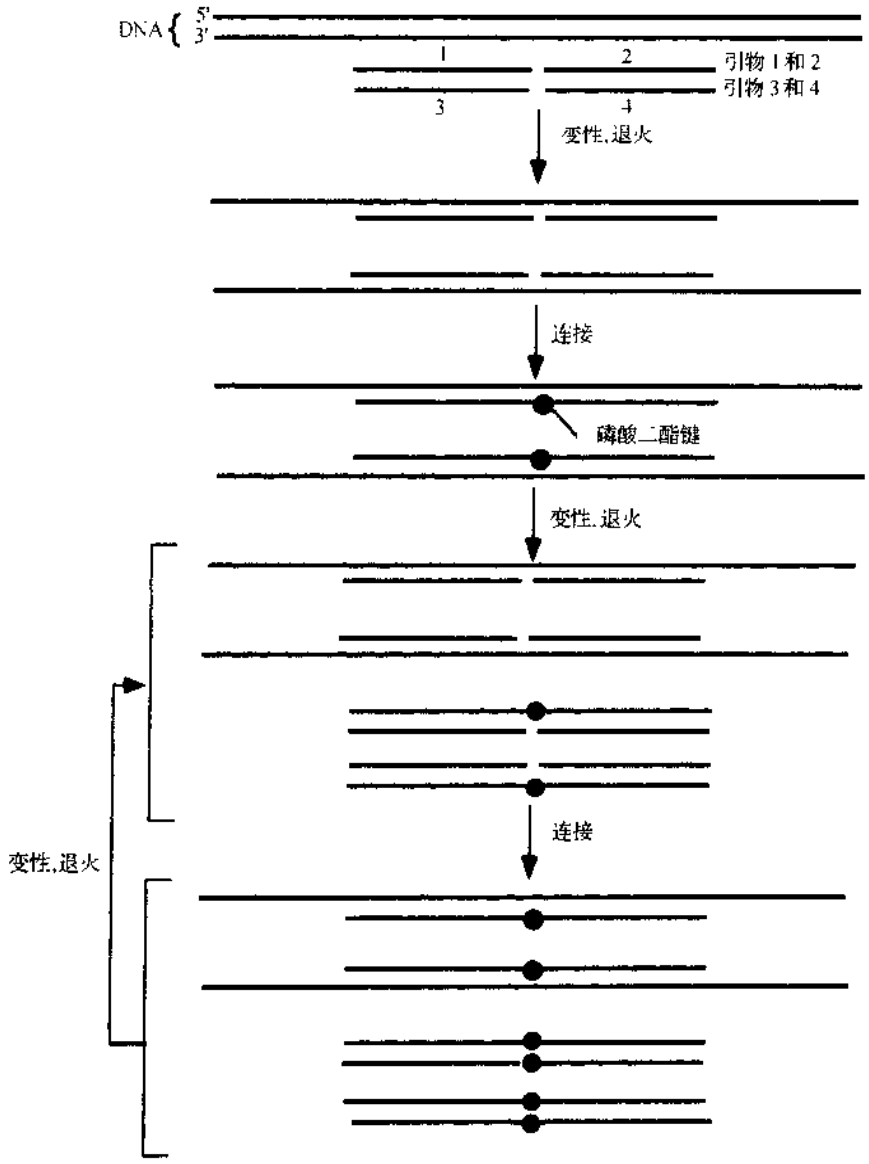


图 9-5　连接酶链反应。连接酶链反应使用两套引物(1-2,3-4)对靶 DNA 的连续片段退火。在该图中引物 1 和 2 与一条链上毗邻的两位点退火,引物 3 和 4 与另一条链上毗邻的两位点退火。一个耐热连接酶在相邻的 3′-OH 和 5′-PO_4 基团间形成磷酸二酯键,连接的产物作为下一次连接反应的模板。如果在连接发生的地方有错配,键就不会形成而且不会生成产物。

9.19　PCR 可否用来产生突变?

为了研究突变对基因表达的影响,研究者发展了一个叫做**定点诱发突变的技术**(sitedirected mutageensis),在特定位点引入点突变。一种最常用的定点诱发突变,利用了引物引导的 DNA 放大来导入突变。该突变可以是碱基替代、插入或者缺失。为了在靶基因特定位点导入突变,一条引物设计成与靶序列该区域互补但在预期位点作碱基替换或缺失。在引物中的诱变序列应该是要么在引物 5′端要么在引物中,但决不能在 3′端。诱变引物的 3′区域(至少 6～10 个碱基)必须与靶 DNA 完全互补以使引物与模板的退火完全而且 *Taq* 酶能延伸引物。PCR 反应先在低特异性环境下反应 5～10 个循环以使错配得以发生,一旦少量的突变模板产生,就可以作为靶序列与引物完全互补。扩增反应的最终产物是大量的含有所需突变的扩增物。这些诱变过的产物可被克隆到质粒或噬菌体并导入细胞进一步分析。

核酸序列分析

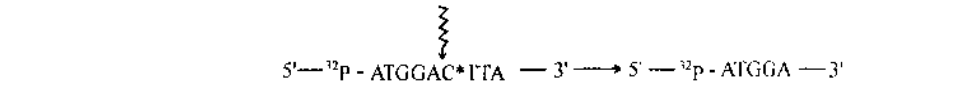
9.20 如何得到 DNA 分子的编码序列?

核酸测序揭示了 DNA 分子的遗传序列。有两种方法,都是产生不同长度的 DNA 片段,条与条之间相差一个碱基并可从中得出核酸顺序。这是通过变性聚丙烯酰胺凝胶电泳来完成的。鉴于琼脂糖凝胶能分辨相差 30～50 个碱基的 DNA 分子,而聚丙烯酰胺凝胶能分辨相差一个碱基的 DNA 分子。变性胶使 DNA 变性并在电泳中一直保持单链。变性胶含有尿素并在较高的温度下跑胶,两个因素均促进 DNA 分子双链的分离。

由于 DNA 不能直接看见,它们通常以某种形式进行标记以便电泳后能观察到条带。最常用的标记方法是用放射性同位素,如^{32}P、^{33}P、^{35}S。电泳后,可以通过在暗室里将 X 光底片放在干胶过的凝胶上几个小时而观察到 DNA 的条带。在这段时间里,每条带的 DNA 分子里的同位素释放出的放射粒子使底片曝光,显影后,每条 DNA 带在与凝胶相应的底片位置上可看见黑色的条带。这张"图"。叫做**放射自显影**(autoradiograph),是 DNA 条带在凝胶上位置的一个映像。

9.21 有两种 DNA 测序的方法,Maxam-Gilert 法和 Sanger 终止法。Maxam-Gilert 法的原理是什么?

Allan Maxam 和 Walter Gilbert 在 1977 年发展了一种测序方法,基于 DNA 在特定位点的化学裂解而非酶解。该技术的第一步是在待测序的 DNA 分子上标记放射性同位素如^{32}P或^{35}S然后分离双链。一旦许多份拷贝的模板 DNA 标记上后,将其均分成 4 份。每份标记的 DNA 进行不同的化学修饰。一份修饰 DNA 中所有的鸟嘌呤,另一份修饰鸟嘌呤和腺嘌呤,再另一份修饰所有的胞嘧啶,最后一份修饰所有的胞嘧啶和胸腺嘧啶。通过控制每管的化学反应,使只有少量的 DNA 受到处理。修饰后,加入能在每个修饰碱基处断裂 DNA 分子的试剂进行反应。例如,在所有胞嘧啶(C)被修饰过的那一份中,用裂解剂处理后,每一个^{32}P标记的 DNA 片段在末端都会有一个碱基对应为在断裂的 C* 之前的那个碱基。如下:



每管反应液分别上样到变性聚丙烯酰胺凝胶的上样孔里进行电泳。电泳将每个 DNA 片段按长度分开,从大到小,以一个碱基递减。大的片段是在靠近 5′端被切断的,小的片段则是在靠近 3′端。现在已经很少使用这种方法了,Sanger 终止法将其取而代之。

9.22 Sanger 终止法是怎样进行 DNA 测序的?

DNA 的酶促合成源于不断加入的核苷酸上的 5′磷酸基团与增长链上的 3′OH 基团间的磷酸二酯键的形成。这个过程一直进行到 DNA 的全长合成完毕。**双脱氧核糖核苷酸**(dideoxynucleotide)没有 3′OH,相应位置被 3′H 所取代。在存在双脱氧核糖核苷酸时,DNA 合成会由于二磷酸键无法形成而停止。链增长在该点结束,在 3′端的最后一个碱基就是该双脱氧终止子。Sanger 测序法的这种修饰叫做**双脱氧终止法测序**(dideoxy termination sequencing)。

在 Sanger 测序法中(图 9－6),模板 DNA 被变性以便与放射性标记的引物杂交。DNA 聚合酶需要有引物来起始 DNA 的合成。因此,通过选择合适的引物,可以决定从何处开始进行 DNA 测序。由于 DNA 每一链由放射性标记引物起始,由引物延伸而生成的 DNA 子代分子也是放射性标记的。

在引物杂交后,样品平均分配到四个离心管里,每管除依次含有四个双脱氧核苷酸终止子(ddATP,ddCTP,ddGTP,ddTTP)中的一个外,还含有 DNA 合成所需其他试剂外。这些包

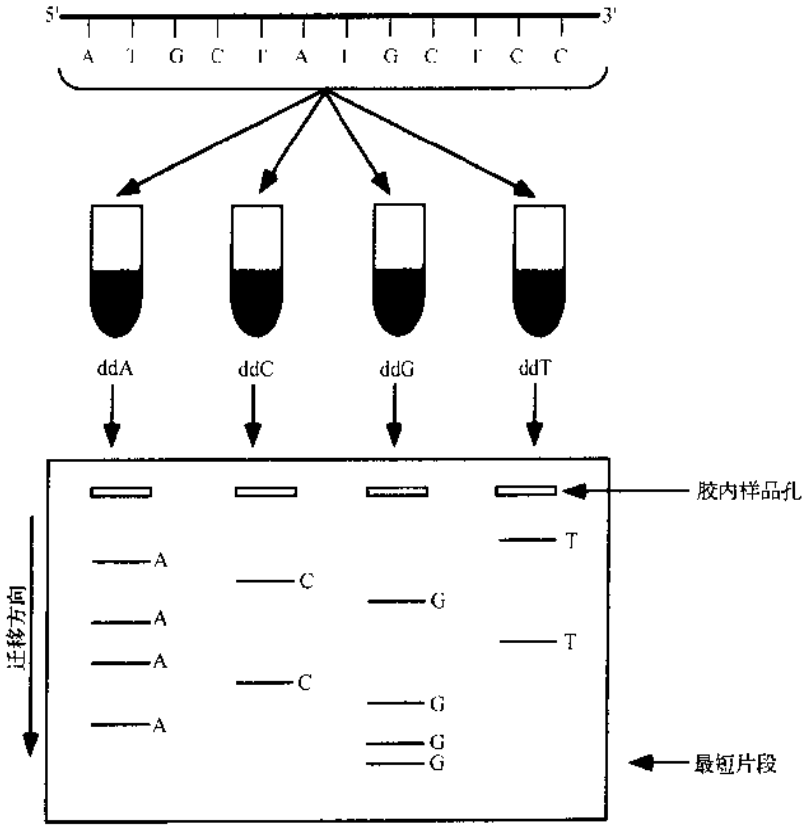


图 9-6　Sanger DNA 测序法。通过 Sanger 双脱氧终止子方法，四个不同反应混合物被用于 DNA 片段测序。每个反应混合物具有要被测序的模板 DNA 分子，放射性标记引物，所有四个脱氧核苷酸，DNA 聚合酶和一个不同的双脱氧终止子(ddA、ddC、ddG 或 ddT)。当这些终止子中的一个结合到新合成的 DNA 链上，那条链的进一步合成将停止；结果就是反应混合物中所有不同长度的链都以同样的碱基结束。放射性产物通过电泳分离并通过放射自显影观察。从胶底部(最短的片段终止于离 5′末端最近的地方)向上读得到和模板链互补的碱基顺序，即图上所示：3′-TACGATACGAGG-5′。

括反应缓冲液、DNA 聚合酶、dATP、dCTP、dGTP 和 dTTP。反应混合物中的双脱氧核苷酸浓度是恰当的测序反应的关键。例如，管里含 ddATP，其与 dATP 的浓度比为 1∶50，这样，合成反应不会在需要 A 时都被终止掉，而是大约在每 50 个 A 时有一个是双脱氧终止的核苷酸。这使得通过 DNA 聚合酶进行的引物延伸能进行下去直到一个 ddNTP 合成到增长的链上。在测序反应持续了几分钟(通常是 5 分钟)后，含有 ddATP 的离心管中将含有大量的不同长度的新合成的 DNA，其末端都是 A。同样，含有 ddCTP、ddGTP 和 ddTTP 的离心管中也分别含有末端是 C、G 和 T 的不同长度的 DNA 分子。

每管的一少部分上样到聚丙烯酰胺凝胶上电泳 2～6 个小时来分开不同大小的 DNA。合成反应得到的 DNA 通过电泳按顺序排列，分子质量最小的(靠近引物，在 5′端)走在凝胶的下面，分子质量大的在凝胶顶部靠近上样孔。电泳完后，进行放射自显影然后条带图谱同 Maxam-Gilbert 法一样读取和解释。

9.23　可以对已经灭绝的生物组织中的 DNA 测序吗?

通过优化 DNA 抽提步骤、PCR 和测序方法，有可能从已灭绝的动植物里得到小的 DNA 片段并确定这些片段的序列。DNA 分子可以在皮革、骨头、琥珀中以缩水状态保存上百万年。从斑鹿(一百年前灭绝的似斑马动物)中的 DNA 最先表明 DNA 可以在很长的时间保存。科学家已能从 5000 年前的古代人和 1.2 亿～1.35 亿年前的琥珀中的昆虫中提取 DNA，虽然这些 DNA 片段只有 100～1000 个碱基长。

9.24 在如此长的时间里，是什么因素阻止了 DNA 的完全降解？

还不是很清楚为什么 DNA 能保存上百万年。然而，已知大多数的 DNA 损害是由于氧化作用导致 DNA 链的缺口和核苷酸结构的变化。这种氧化降解过程主要在含水的环境中发生。处于脱水状态的 DNA 例如与骨骼中羟基磷灰石结合或保存在琥珀中将免于氧化降解，因此，也就保存得更久。

复 习 题

选择题 除非特别指明，选择一个最合适的答案。

1. DNA 杂交是用于检测样品中特殊 DNA 序列的常规技术。此技术基于 DNA 的以下特点除了(　)。 (a)双链 (b)变性-复活特性 (c)碱基配对特性 (d)大沟和小沟 (e)序列的特异性

2. 下列(　)不是 DNA 杂交分析的成分。 (a)靶 DNA (b)探针 (c)DNA 连接酶 (d)标记分子 (e)硝化纤维素膜

3. 探针所必需的两个特点(　)。 (a)与靶 DNA 的互补性 (b)靶分子长度 (c)探针长度 (d)标记基团的存在 (e)分析方式

4. 下列(　)能确定 DNA 杂交分析的忠实性和特异性。 (a)反应的严格度 (b)分析的方式 (c)聚合率 (d)标记分子的类型 (e)固体支持物的类型

5. 杂交反应的严格度和下列(　)无关。 (a)NaCl 浓度 (b)标记分子的类型 (c)杂交温度 (d)反应的 pH 值 (e)探针的核酸序列

6. DNA 杂交分析中标记分子的主要作用是(　)。 (a)促进杂交反应的严格度 (b)使靶 DNA 结合到固体支持物上 (c)帮助碱基配对 (d)增加探针的退火效率 (e)有助于探针-靶杂交的检测

7. 下列(　)不是用于 DNA 杂交分析的标记分子类型。 (a)化学发光 (b)酶底物 (c)溴乙锭 (d)酶 (e)放射性同位素

8. 当检测水溶液的临床样品(如脑脊髓液)的病原体 DNA 是否存在时，下列(　)杂交分析方式是最好的。 (a)Southern 杂交 (b)原位杂交 (c)液相杂交 (d)点杂交 (e)Western 杂交

9. 当检测基因组 DNA 的限制酶切消化基因片段的存在和位置时，下列(　)杂交分析方式是最好的。 (a)Southern 杂交 (b)原位杂交 (c)液相杂交 (d)点杂交 (e)Western 杂交

10. 当检测细胞内病原体 DNA 的存在和位置时，下列(　)杂交分析方式是最好的。 (a)Southern杂交 (b)原位杂交 (c)溶液内杂交 (d)点杂交 (e)Western 杂交

11. 下列方法中(　)对于 DNA 特殊基因片段的酶扩增是最有用的。 (a)DNA 杂交 (b)核酸测序 (c)聚合酶链反应 (d)DNA 连接 (e)反转录

12. 聚合酶链反应通过耐热 DNA 聚合酶进行的 DNA 复制周期的不断重复。这些步骤是 DNA 复制、引物退火和模板变性。获得理想结果的步骤顺序是(　)。 (a)复制、退火、变性 (b)复制、变性、退火 (c) 退火、变性、复制 (d) 退火、复制、变性 (e)变性、退火、复制

13. 下列，(　)因子不影响聚合酶链反应的忠实性。 (a)$MgCl_2$ (b)退火温度 (c)反应 pH 值 (d)牛血清白蛋白 (e)*Taq* 聚合酶

14. 连接酶链反应是另一个获得靶基因酶扩增的方法。此技术最适于检测(　)。 (a)等位基因 (b)病原体 (c)扩增产物 (d)RNA (e)病毒

15. RT PCR 技术最适于检测(　)。 (a)等位基因 (b)病原体 (c)扩增产物 (d)RNA

(e)细菌

16. 定点诱发突变可通过下列(　)过程获得。　(a)PCR　(b)LCR　(c)RT-PCR　(d)RAS　(e)TAS
17. 核酸测序通常由下列(　)技术决定。　(a)琼脂糖凝胶电泳　(b)毛细管电泳　(c)淀粉胶电泳　(d)变性聚丙烯酰胺胶电泳　(e)非变性聚丙烯酰胺胶电泳
18. 测序胶电泳的分辨水平是(　)。　(a)10 个碱基　(b)1 个碱基　(c) 100 个碱基　(d)5 个碱基　(e)25 个碱基
19. Maxam-Gilbert 核酸测序方法的基础是(　)。　(a)PCR　(b)DNA 的化学修饰　(c)双脱氧核苷酸　(d)RT-PCR　(e)LCR
20. Sanger 核酸测序法的基础是(　)。　(a)PCR　(b)DNA 的化学修饰　(c)双脱氧核糖核苷酸　(d)RT-PCR　(e)LCR

是非题　正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 为了检测靶 DNA 分子,DNA 杂交技术依赖于碱基互补性。
2. 严格度是定义一个 DNA 分子和另一个同源性水平的术语。
3. 在 DNA 杂交分析中,靶分子大小必须至少是探针的两倍。
4. 用于 DNA 杂交分析的探针必须含一个标记基团。
5. 标记基团是必需的,因为它们促进探针对靶 DNA 的亲合性。
6. 寡核苷探针经常用于需要高度特异性的杂交分析,尽管通常需要过夜杂交。
7. $C_0t_{1/2}$时间定义了 PCR 分析中优化产物所需的周期数。
8. 通过削弱 DNA 分子中两个相对的骨架之间内在的排斥力,高盐浓度减少了杂交反应的严格度。
9. 生物素标记基团也被认为是亲合性标记基团。
10. 靶 DNA 结合到固体支持物上的杂交反应速度要比在溶液中快。
11. DNA 杂交分析常用的固体支持物有尼龙和硝化纤维素膜以及塑料微孔板。
12. Southern 杂交依赖于 DNA 从琼脂糖凝胶到膜的毛细管转移。
13. 聚合酶链反应需要 DNA 聚合酶来启动从引物开始的 DNA 合成。
14. 引物对于 DNA 杂交分析很重要,因为它们决定了所得扩增片段的长度。
15. PCR 分析需要单个引物。
16. PCR 分析中的退火步骤是杂交所必需的。
17. 在 PCR 分析中,不管混合物试剂的浓度如何,周期数越多 DNA 的产量越多。
18. 不耐热的聚合酶也可用于自动 PCR。
19. $MgCl_2$ 和退火温度影响 PCR 的忠实性和特异性。
20. 对于成功 PCR 的反应,引物和 dNTP 应大量过量。
21. 扩增产物通过电泳或 DNA 杂交分析检测。
22. 连接酶链反应依靠一个区域侧面的一对引物去扩增。
23. RT-PCR 利用反转录酶特性从 RNA 模板合成 DNA。
24. 放射自显影是所得 DNA 测序反应的图谱并用来推断 DNA 分子的核苷酸顺序。
25. 双脱氧终止子是在脱氧核糖分子中缺乏 2′羟基的核苷酸,因此而不能和新来核苷酸的 5′磷酸基形成磷酸二酯键。

匹配题　将 A 栏中每一个项目与 B 栏中的一个项目相配对,使其具有最密切联系。B 栏中的每个项目只能用一次。

A 栏	B 栏
1. 放射性同位素	A. 杂交到靶 DNA

2. 标记分子	B. 琼脂糖凝胶电泳
3. Maxam-Gilbert 方法	C. Sanger 方法
4. 双脱氧终止子	D. 探针
5. 变性胶	E. 72℃
6. 严格度	F. 放射自显影
7. 生物素	G. 启动 DNA 合成
8. 点杂交	H. 检测点突变
9. Southern 杂交	I. 非放射性标记
10. 原位杂交	J. 耐热酶
11. 引物	K. DNA 测序电泳
12. 退火步骤	L. RT-PCR
13. *Taq* 聚合酶	M. 碱基的化学修饰
14. 延伸步骤	N. 扩增产物
15. 变性步骤	O. 温度和 pH 值
16. 连接酶链反应	P. 组织片段
17. 反转录酶	Q. 固相
18. PCR 产物	R. 不耐热的 DNA 聚合酶
19. Klenow 片段	S. 94℃
20. 仅允许 100%碱基配对	T. 低严格度
	U. 高严格度
	V. 定点诱发突变

术语 除非特别指明，每个答案为一个词。

1. 不同来源的两个单链 DNA 分子形成一个稳定的双链分子的过程。
2. 用于检测想要靶 DNA 的存在的已知顺序或起源的单链核酸分子。
3. 附着到探针上的化学或放射性的基团。
4. 描述杂交反应中维持双链核酸分子可允许的碱基配对错误数量的词语。
5. 当催化反应将底物转变成产物时，用于检测标记分子的基团。
6. DNA 杂交可以进行的两个方式。（两个词）
7. DNA 片段从琼脂糖凝胶转移到膜上并在那里进行杂交的杂交分析类型。（两个词）
8. 靶 DNA 直接置于膜上的杂交分析类型。（一至二个词）
9. PCR 通过重复三个温度孵育步骤许多次而进行。第一个步骤的名称。
10. PCR 的第二个步骤。
11. PCR 的第三个步骤。
12. PCR 产物的另一个名称。
13. 用于自动 LCR 分析的耐热酶。
14. 用 PCR 引起 DNA 分子中的点突变。（两至三个词）
15. 用于 DNA 测序产物电泳的胶。
16. 使用碱基修饰和分裂战略进行 DNA 测序的方法。（两个词）
17. 用于 Sanger 测序方法的核苷酸。（两至三个词）

答　案

选择题

1. d **2.** c **3.** a 和 d **4.** a **5.** b **6.** e **7.** c **8.** d **9.** a **10.** b **11.** c **12.** e **13.** d

14. a **15.** d **16.** a **17.** d **18.** b **19.** b **20.** c

是非题

1. T **2.** T **3.** T **4.** T **5.** F(因为它们可检测杂交体所以必需) **6.** F(短杂交时间) **7.** F(决定杂交时间) **8.** T **9.** T **10.** F(杂交反应在溶液中更快) **11.** T **12.** T **13.** T **14.** F(杂交分析不涉及引物) **15.** F(需要两个引物) **16.** T **17.** F(试剂浓度在 PCR 中限速) **18.** F(在每个周期中需加聚合酶限制了自动) **19.** T **20.** T **21.** T **22.** F(依赖于两对引物) **23.** T **24.** T **25.** F(它们缺乏 3′羟基)

匹配题

1. F **2.** D **3.** M **4.** C **5.** K **6.** O **7.** I **8.** Q **9.** B **10.** P **11.** G **12.** A **13.** J **14.** E **15.** S **16.** H **17.** L **18.** N **19.** R **20.** U

术语

1. 杂交 **2.** 探针 **3.** 标记 **4.** 严格度 **5.** 酶 **6.** 溶液(液相) **7.** Southern 杂交 **8.** 点杂交 **9.** 变性 **10.** 退火(杂交) **11.** 延伸 **12.** 扩增产物 **13.** 连接酶 **14.** 定点诱发突变 **15.** 聚丙烯酰胺 **16.** Maxam-Gilbert **17.** 双脱氧核糖核苷终止子

10 真核细胞及其病毒

导　言

尽管真核细胞及其病毒进行着许多与已广泛研究的细菌和噬菌体相同的过程，但在细节上却是不同的，尤其是那些在特殊细胞器中进行的。一些重要的过程几乎仅发生在真核细胞极其病毒中，这其中包括 RNA 加工（外显子拼接）和蛋白质修饰（蛋白酶剪切、糖基化作用、磷酸化作用）。第 4 章讨论了转录调节和 RNA 加工，第 5 章讨论了翻译过程。在本章将首次考虑蛋白质修饰及将蛋白质运输到不同部位和细胞器。然后举几个导致细胞转化和癌性状态的病毒成熟和病毒与细胞间相互作用的例子。

真 核 细 胞

10.1　真核生物一般会修饰新形成的（新生的）蛋白质。这些修饰发生在哪儿？

许多蛋白质变化发生在内质网（ER）腔和高尔基膜（高尔基体）内。为了进入这些细胞器，新生的蛋白质必须在其氨基端具有一个**信号序列**（signal sequence）（前导序列）（图 10－1a）。信号序列长度为 16～32 个氨基酸，它能被**信号识别颗粒**（signal recognition partical，SRP）识别。SRP 是六个蛋白质和一个长度为 300 个核苷酸的 RNA 分子（srpRNA）的混合物。SRP 使新生肽结合到核糖体上，并使它们附着到内网表面的 **SRP 受体**（SRP 停靠蛋白）上。随着新生多肽合成的继续，信号序列从 SRP 上分离下来，插入膜内并与膜上的**信号序列受体**（signal sequence receptor，SSR）蛋白质发生联系。信号序列也可和**信号序列肽酶**（signal sequence peptidase）发生联系，使其从信号肽上切割下来。在有些情况下，蛋白质成为膜的一部分，这时信号序列可以不被切割，它可以起蛋白锚的作用。

10.2　成为质膜的一部分或从细胞中运输出来的多数蛋白质都是加了糖的。这个过程是在哪儿和怎样完成的？

糖基化作用（glycosylation）是将糖加到蛋白质上的过程，此过程在内质网腔开始。短链多糖在一种叫做**多萜醇**（dolichol）的 ER 膜脂上聚合。酶催化多糖从多萜醇转移到新生蛋白质的特殊天冬酰胺上。这些多糖链被称为 ***N*－联糖**（*N*-linked carbohydrate），是因为它们能够连接到天冬酰胺的游离氨基（NH_2－）上（图 10－1b）。在高尔基膜，*N*－联糖进一步被修饰。*N*－乙酰－葡糖胺、果糖、甘露糖、半乳糖和唾液酸组成了 *N*－联糖类。

另一组糖称为 ***O*－联糖**（*O*-linked carbohydrate），它们被加到丝氨酸、苏氨酸、有时羟脯氨酸和羟赖氨酸的—OH 基上。*O*－联糖是通过在 ER 腔或高尔基体内一个接一个加入糖而合成的。*O*－联糖内常遇见的糖类有 *N*－乙酰－半乳糖胺、半乳糖、唾液酸和岩藻糖。

10.3　线粒体和叶绿体内的蛋白质多数是由核的基因编码的。那么这些蛋白质是如何找到正确的细胞器，成为细胞器的一部分并留在细胞器内的？

嵌于脂双分子层的一层或两层的蛋白质称为**整合膜蛋白**（integral membrane protein）。这些蛋白质具有一个或更多叫做**疏水区**（hydrophobic domain）的疏水序列。当蛋白质“溶解”

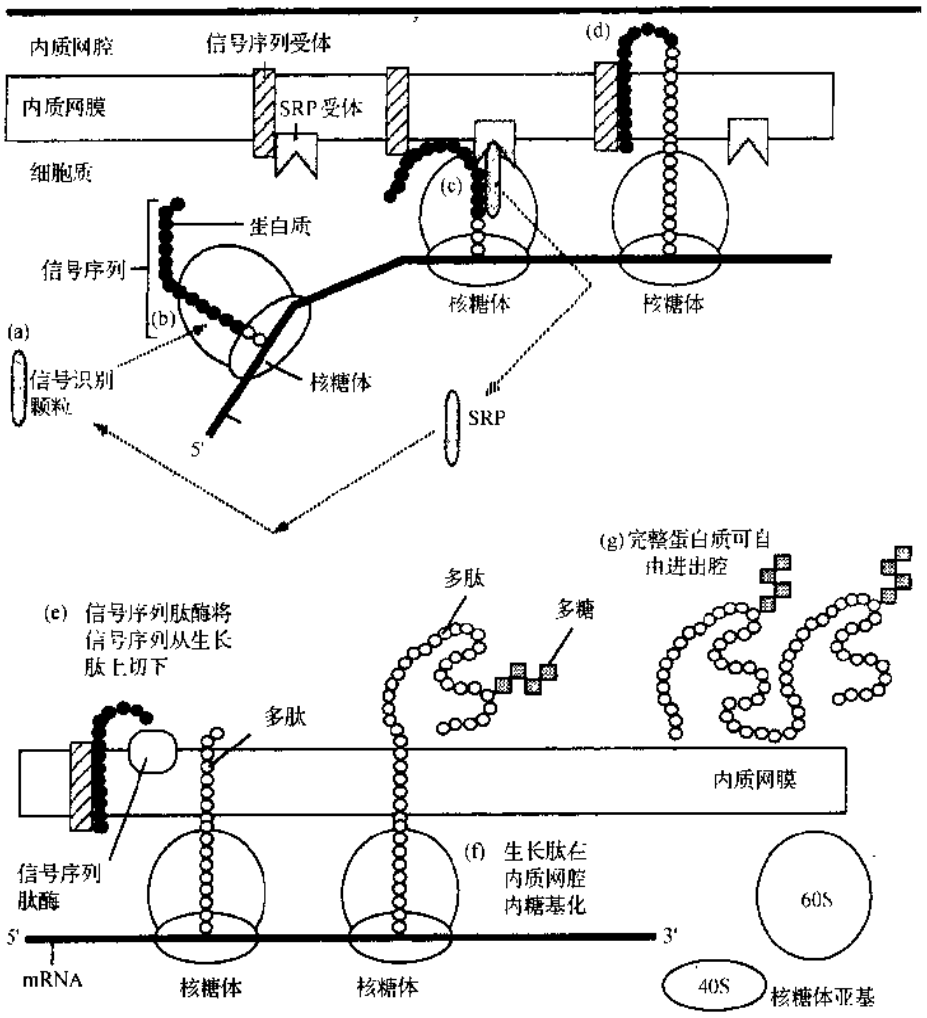


图 10-1　蛋白质进入 ER 腔的机制。(a)～(b)信号识别颗粒(SRP)结合到核糖体和位于新形成蛋白质氨基末端的信号序列。信号序列长度为 16～32 个氨基酸。如果蛋白质要穿入内质网腔内则必须有信号序列。(b)～(c)SRP 结合到膜的信号识别颗粒受体(SRPR)上。(c)～(d)信号序列结合到信号序列受体上，以使它能够穿过膜。SRP 从核糖体上释放并可再利用。(d)～(e)在膜腔一侧的信号序列肽酶将信号序列从新形成的蛋白质上切割下来。(e)～(f)蛋白质继续延伸并穿过膜。通常它都在酶的作用下被糖基化。(f)～(g)如果没有疏水区(终止转移区)，蛋白质将完全穿过膜进入内质网腔内。

到膜的脂双分子层时，疏水区域将蛋白质结合到膜上。

内质网上合成的蛋白质能够进入 ER 内是因为前导区溶入膜内或穿入某种形式的孔内。当新的蛋白质被合成时，它会沿着它的方向穿过膜，弯曲进入 ER 腔。如果形成的蛋白质沿着长度方向有疏水区域，这些仍将溶入膜内，蛋白质将弯曲进入细胞质直到它再次穿过膜。有 6 个独立的疏水区的蛋白质可以弯曲穿过膜 6 次。因为疏水区不能穿过膜，它们也被称为**终止转移区域**(stop transfer domain)。

在单膜系统(ER、高尔基膜、过氧化物酶体膜、核膜或质膜)内保留完整膜蛋白的氨基酸序列才刚刚被鉴别。据了解，一个被称为**保持序列**(retention sequence)的特殊氨基酸序列指导蛋白质到合适的膜并维持在那里。保持序列内一个氨基酸的更换都有可能引起相关蛋白质到达错误的膜或输送出细胞。

在蛋白质羧基端的 ER 保持序列维持已进入 ER 的蛋白质附着到 ER 膜上。ER 保持序列由 4 个氨基酸组成：Lys-Asp-Glu-Leu（**KDEL 序列**）。(为了简化氨基酸序列，用单个字母表示每个氨基酸，见表 5.1。)在某些蛋白质中，精氨酸或组氨酸可以代替赖氨酸(**RDEL 或 HDEL 序列**)，谷氨酸可以代替天冬氨酸(**KEEL 序列**)。除去 ER 保持序列甚至只改变一个氨

基酸都可以引起蛋白质被运出细胞。相反，给蛋白质增加 ER 内没有的 ER 保持序列可引起蛋白质成为 ER 的一部分。ER 保持序列通过结合到一个完整的膜蛋白即**保持序列受体**(retention sequence receptor)上使蛋白质维持在 ER 内。保持序列受体使 ER 蛋白质在 ER 和顺面高尔基膜之间循环。**顺面高尔基膜**(Golgi membrane)和内质网是离得最近的。

指导特殊蛋白质到溶酶体的信号由 *N*-联糖上的磷酸化甘露糖组成。磷酸化甘露糖是被位于反面高尔基膜上的一种叫做甘露糖-6-磷酸的膜蛋白识别的。反面高尔基膜是高尔基体最外面的膜。磷酸受体结合磷酸化的蛋白质并将蛋白质带到溶酶体。溶酶体的酸性 pH 值引起蛋白质从磷酸受体上释放。然后，磷酸受体又可回到反面高尔基膜进行再利用。

10.4 蛋白质是如何区分细胞器例如线粒体中不同区室的?

多数到线粒体和叶绿体的蛋白质是在细胞质中的游离 80S 核糖体上合成的。这些蛋白质在氨基端有两个信号序列，其中一个结合到线粒体或叶绿体外膜的信号序列受体蛋白上。蛋白质通过运输通道蛋白提供的"孔"穿过外膜和内膜，其运动需要同样的信号序列。为了能穿过外膜和内膜，靶蛋白质必须通过分子唇基或展开的蛋白质进行伸展，并需要消耗 ATP 以提供能量。蛋白质运送到基质(线粒体内)需要跨内膜的电压，而蛋白质运送到叶绿体基质需要 ATP 水解。一旦进入基质，第一信号序列被信号序列肽酶除去。

基质中蛋白质运动到其他区室需要第二信号序列。第二信使可以促使蛋白质插入到膜中。疏水序列将蛋白质固定在膜上。然而对于线粒体，第二信号序列促使蛋白质穿过内膜进入膜间区(在内膜和外膜之间)。另一个信号序列肽酶切除第二信号序列，使蛋白质被释放并留在膜间间隙。蛋白质以基本上相同的方式进入叶绿体内**囊体**。第二信号序列引导蛋白质从基质进入内**囊体**中。

感染真核生物的病毒

10.5 病毒是活的生物吗?

所有病毒(**病毒体**)都是只能在细胞中繁殖的非细胞的传染性介质。病毒之所以被说成"生物"是因为有些病毒极为复杂且高度有序，甚至最简单的病毒的遗传物质也有成千上万个碱基并被一层保护性外壳覆盖。然而，它们和细胞生物活的含义不一样。例如，病毒体穿过密闭的膜时不产生或消除电压以集中营养物、分配离子或产生可利用的化学能如 ATP。另外，病毒并不指导许多必需的基本成分(如氨基酸、糖、核苷酸和脂)的简单前体产生它们的遗传信息、外壳(衣壳)或膜的合成过程。但是，所有这些活动都可在细胞生物中发生。

病毒结构

10.6 病毒的物理特性是什么?

多数感染真核细胞的病毒是由核酸(可以是 DNA 也可以是 RNA)和包裹在核酸外面的一层蛋白外壳组成的。蛋白外壳也就是**衣壳**(capsid)。衣壳通常是坚硬的，形状为圆柱状、球状或二十面体(有十二个顶点二十个面)。然而有些真核病毒不太容易定义，因为它们的结构和形状很复杂。

衣壳的一个蛋白亚单位被成为**壳粒**(capsomere)。一些衣壳完全是由相同的壳粒组成的。然而，多数真核病毒的衣壳是由许多不同蛋白质组成的。核酸和衣壳的复合体经常被特指为**核壳**(nucleocapsid)。某些情况下，核壳外还有第二层衣壳。许多动物病毒被一层从它们繁殖所在地即寄主细胞处获得的膜(脂双分子层)包围。这些病毒被称为**有包膜病毒**(enveloped virus)。那些没有包膜的是**裸病毒**(naked virus)。

最简单的核酸长度平均为 3000 个核苷酸左右。这些短的核酸通常只编码 3～4 个蛋白质：壳粒、核酸聚合酶、解旋酶和一种能促进病毒从一个细胞感染或传播到另一个细胞的蛋白

质。最复杂的病毒可编码多到 200 个不同的蛋白质。这些特别的蛋白质可以帮助病毒避免寄主的免疫反应，感染大量不同的细胞类型，使细胞代谢朝病毒繁殖方向转移或精细调节病毒的复制。复杂病毒的 DNA 长度范围在 100 000～300 000 之间。

10.7　真核病毒是怎样被区分和分类的?

用来区分真核病毒的主要特点是和核酸有关的。首先，病毒以它们是 **DNA 病毒**(DNA virus)还是 **RNA 病毒**(RNA virus)进行分类。取决于种类，病毒的 DNA 或 RNA 可以是单链的或是双链的。如果单链 RNA 能起 mRNA 的作用就被称为**正链 RNA**(+RNA)；如果它相当于反义 RNA，那么它就被称为**负链 RNA**(−RNA)。有些植物和动物病毒(如雀麦花叶病毒和流感病毒)基因组是断开的，以分开的染色体形式存在，这被称为**节**(segment)。

病毒形状可用来区分病毒，因为它们有许多独特的形式：二十面体、圆柱状(螺旋状)、球状、弹状和复合体。严格讲，**二十面体病毒**(icosahedral virus)具有一个有二十个三角形表面、12 个顶点和 30 条边的衣壳。最简单的二十面体病毒每个面由三个壳粒组成。这样一个衣壳共有 60 个壳粒。许多病毒超过二十个面但却是二十面对称结构，这样的病毒也归为二十面体病毒。

☞ **例 10.1**

引起甲型肝炎及脊髓灰质炎的细小核糖核酸病毒，感冒病毒和口蹄疫被称为二十面体病毒，但实际上它们有 36 个顶点和 60 个面。它们有二十面对称结构但不是真的二十面体形状。

通常，**圆柱状病毒**(cylindrical virus)被称为**螺旋形病毒**(helical virus)，因为它们的壳粒排列螺旋状。烟草花叶病毒(在烟草中引起花叶病的因子)就是一个圆柱状病毒或螺旋形病毒的例子。有些植物中的圆柱状病毒特别长且很柔软。正因为它们的长度，它们也被称为**丝状病毒**(filamentous virus)。

球状病毒(Spherical virus)通常由一个球形的膜及其下面的蛋白基质覆盖着一个二十面体，螺旋形或球形衣壳或核壳。

☞ **例 10.2**

反转录病毒家族的人类 T 细胞嗜淋巴细胞病毒(HTLV-Ⅰ，-Ⅱ)有一个螺旋形核壳和一个二十面体衣壳，并有球形蛋白基质和膜覆盖在衣壳上。人免疫缺陷病毒也是反转录病毒家族的，它有一个螺旋形核壳、一个弹形衣壳、球形蛋白基质和包膜。

弹状病毒家族中可找到**弹形病毒**(bullet-shaped virus)。弹形病毒包括引起狂犬病、水泡性口炎、脑炎和动物出血热的病毒。它的衣壳归类为螺旋形是因为其壳粒排列成螺旋状。一端朝内向着长轴方向旋转，而另一端朝外旋转。末端被加了帽子形成弹形衣壳。

复合病毒(complex virus)包括那些在痘病毒家族的，痘病毒可引起所有类型动物痘病(天花)和发热(非洲猪热病)。现在所知的最大的病毒就属于这一族。目前为止，还不清楚痘病毒是否也具有一个和其他病毒中类似的衣壳。伴随双链 DNA 染色体组的是大量蛋白质，形成了最初的花生状衣壳。随着病毒发育，花生状衣壳的末端变长。此覆盖物和 DNA 一起被称为**病毒髓部**(viral core)或**拟核**(nucleoid)。髓部被一些其他层的物质外加一层包膜所覆盖。

包膜的存在与否是区分病毒的另一个重要的特点。

☞ **例 10.3**

一些具有包膜的病毒家族是痘病毒(疫苗)、疱疹病毒(疱疹)、副黏病毒(麻疹病毒)、正黏

病毒(流感病毒)、弹状病毒(狂犬病病毒)、反转录病毒(人免疫缺陷病毒)、沙粒病毒(淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒)、冠形病毒(cold and diarrheal virus)、bunyaviridae(加利福尼亚脑炎病毒)、黄病毒(黄热病毒、丙型肝炎病毒)和披膜病毒(马脑炎病毒)。

病毒的大小对于区分密切相关的病毒或形状相同的病毒经常是很有用的。一些具有二十面体对称结构的最小的病毒属于小 RNA 病毒科。它们的直径在 28～30nm 之间。一些相同家族的病毒在大小上变化相当大,例如那些属于正黏病毒科的直径在 90～120nm 之间,而那些属于副黏病毒科的直径在 150～300nm 之间。属于痘病毒科的病毒是所知最大的病毒。某些痘病毒可在光学显微镜下看到,因为它们的大小通常为长 300～450nm,宽 170～260nm。

动物病毒

10.8 病毒感染都包括些什么?

病毒感染(infection)包括病毒体附着到寄主细胞上,通过病毒体或它的遗传信息侵入寄主细胞,病毒繁殖的一些症状或细胞转化。

10.9 病毒体是怎样附着到寄主细胞上的?

对于多数病毒,繁殖的第一步就是病毒体**附着**(attachment)或**吸附**(adsorption)到寄主细胞表面上,寄主细胞将支持病毒的繁殖(图 10-2a)。几乎所有感染动物细胞的病毒吸附过程都是由和衣壳或包膜相关的特异蛋白质调节的,此蛋白被称为**病毒结合位点**(viral binding site)或**病毒附着蛋白**(viral attachment protein)。附着蛋白和在寄主细胞表面上的专一蛋白质或多糖(通常是糖蛋白的一部分)相互作用。在寄主细胞上的蛋白质被称为**细胞受体**(cellular receptor)或**寄主受体**(host receptor)。病毒附着蛋白和寄主受体的专一性决定了病毒可以附着(吸附)并感染的寄主细胞。一个病毒可以感染和繁殖寄主的多样性被称为**寄主范围**(host range)。特定类型寄主细胞对病毒的"吸引"就是**细胞向性**(cellular tropism)。特定类型寄主细胞的"吸引"主要由病毒附着蛋白和寄主受体的互补性决定。因为动物不同组织经常会缺乏或很少有受体,所以病毒可能不能吸附到所有组织。

例 10.4

病毒附着蛋白和寄主受体的多样性解释了属于同一科的病毒如:鼻病毒(感冒)、脊髓灰质炎病毒(脊髓灰质炎)、肝炎病毒(肝硬化)是如何吸附到特殊的组织并引起非常不同的疾病的。

10.10 一旦病毒附着到寄主细胞表面,它们是怎样进入细胞的?

病毒体进入细胞称为**侵入**(penetration),包括病毒体(某些情况下,包膜不进入细胞)穿过寄主细胞的质膜。侵入通常由两个过程完成:**胞吞作用**(endocytosis)和**膜融合**(membrane fusion)。胞吞作用在图 10-2b 中显示。在胞吞作用中,病毒进入被称为**内体**(endosome)的膜泡(通过质膜内陷形成)中的细胞质内。内体内 pH 的降低常常是引起衣壳分裂和核酸释放的触发物,此过程就是**脱壳**(uncoating)(图 10-2c)。很多情况下,脱壳和病毒体基因组进入细胞质的运动密切相关。

通过膜融合进入细胞的病毒几乎总是有包膜的。在这样一个病毒中,包膜和质膜(而不是和内体膜)融合,核壳或核蛋白核心流入细胞质内。

多数 DNA 病毒的基因组都可到达核内,然而此过程是怎样发生的还不知道。痘病毒在细胞质中的复制是个例外。一般来说,正链 RNA 病毒在细胞质中复制,而负链 RNA 病毒在细胞质或核内复制它们的基因组。

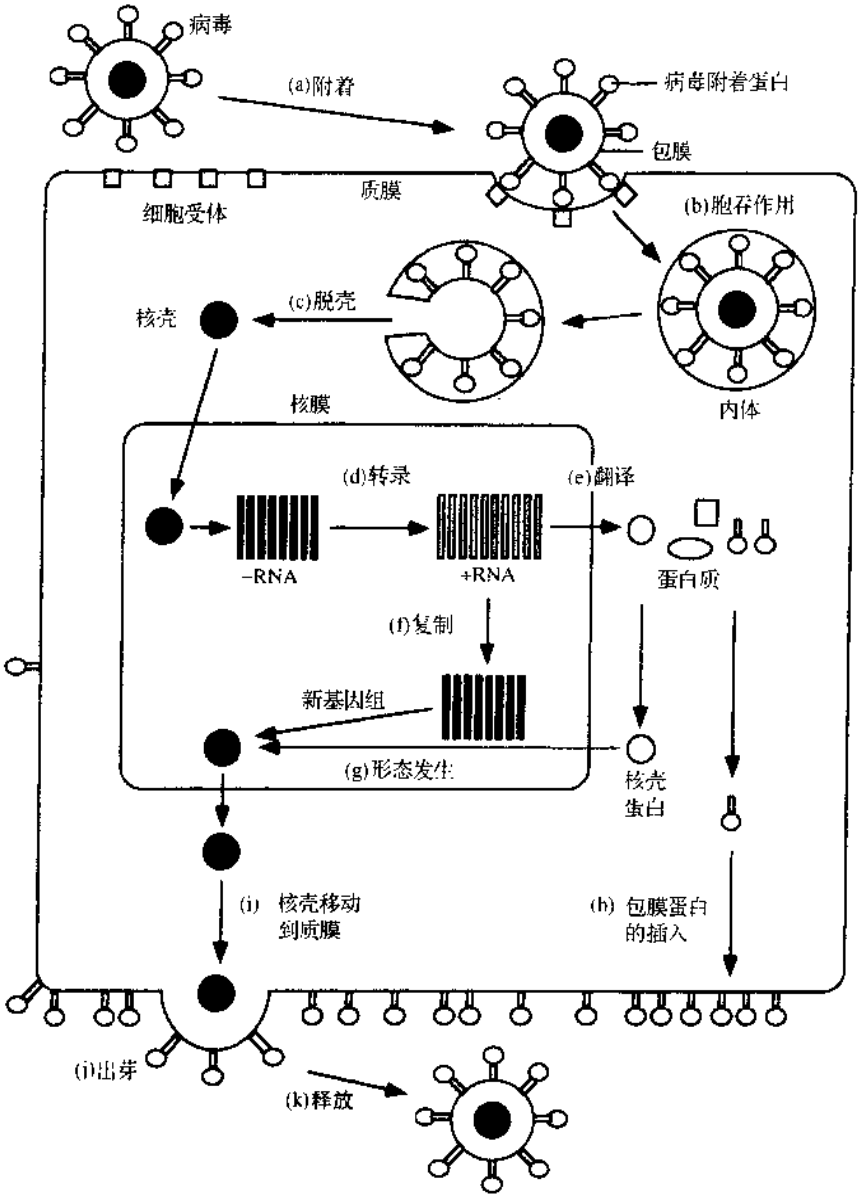


图 10－2　有包膜病毒通过胞吞作用感染真核生物。(a)流感病毒通过它的附着蛋白附着到质膜的寄主受体上；(b)寄主的质膜围绕病毒并将其吸引到细胞内，此过程就是胞吞作用；(c)内体内 pH 值降低引起病毒包膜和内体膜融合并释放核壳，此过程称为脱壳；(d)病毒的八个基因组 RNA 分子(每个有一个或两个基因)被衣壳蛋白质覆盖。由大黑球表示的核壳进入核中，而八个负链 RNA 片段从衣壳蛋白质上分离下来。八个负链 RNA 分子转录产生十个病毒 mRNA(＋RNA)；(e)一些正链 RNA 进入细胞质，在那儿它们作为产生多种病毒蛋白质 mRNA；(f)八个全长正链 RNA 作为模板合成基因组负链 RNA；(g)核壳蛋白质进入核内并开始形态发生过程；(h)包膜蛋白质在到达质膜之前先穿过 ER 和高尔基体；(i)八个核壳离开核并和质膜中的蛋白质发生联系，这就开始了一个出芽过程(j)；(k)当芽从质膜上脱落时，一个病毒颗粒被释放。

10.11　一旦病毒基因组到达细胞质或核会发生什么?

一旦病毒核酸到了合适的部位(细胞质或核)，它就会被转录(图 10－2d)然后被翻译(图 10－2e)。通常此过程发生在核酸复制开始前。对于基因组在核内的 DNA 病毒和一些 RNA 病毒，翻译发生在细胞质中从核膜运送过来的 mRNA 上。某些在感染早期合成的蛋白质在病毒核酸复制中起了一定作用。

10.12　病毒中的核酸复制过程是极端不同的。然而还是可以列出一些核酸复制的一般特点。通常，单链正 RNA 病毒是如何复制它们的基因组的？

单链正 RNA 病毒具有可直接翻译的核酸（图 10－3a），也就是说，它们的核酸可以像 mRNA一样被表达。细小核糖核酸病毒、披膜病毒和黄病毒的正 RNA 翻译后产生多蛋白，随后此多蛋白被病毒或细胞蛋白酶切开。多蛋白产生的**依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶**（RNA-dependent RNA polymerase）催化负 RNA 链的转录。负 RNA 是“反义”RNA，它们作为模板合成基因组正 RNA。其他从多蛋白得到的蛋白质作为衣壳结构成分而起作用。

反转录病毒（retrovirus）（引起艾滋病和白血病）是一组不寻常的正 RNA 病毒，因为它们利用 DNA 作为模板合成新的正 RNA（图 10－3b）。感染时，正 RNA 基因组通过病毒携带的酶转变成双链 DNA 分子。一个不寻常的 DNA 聚合酶即**反转录酶**（reverse transcriptase）能

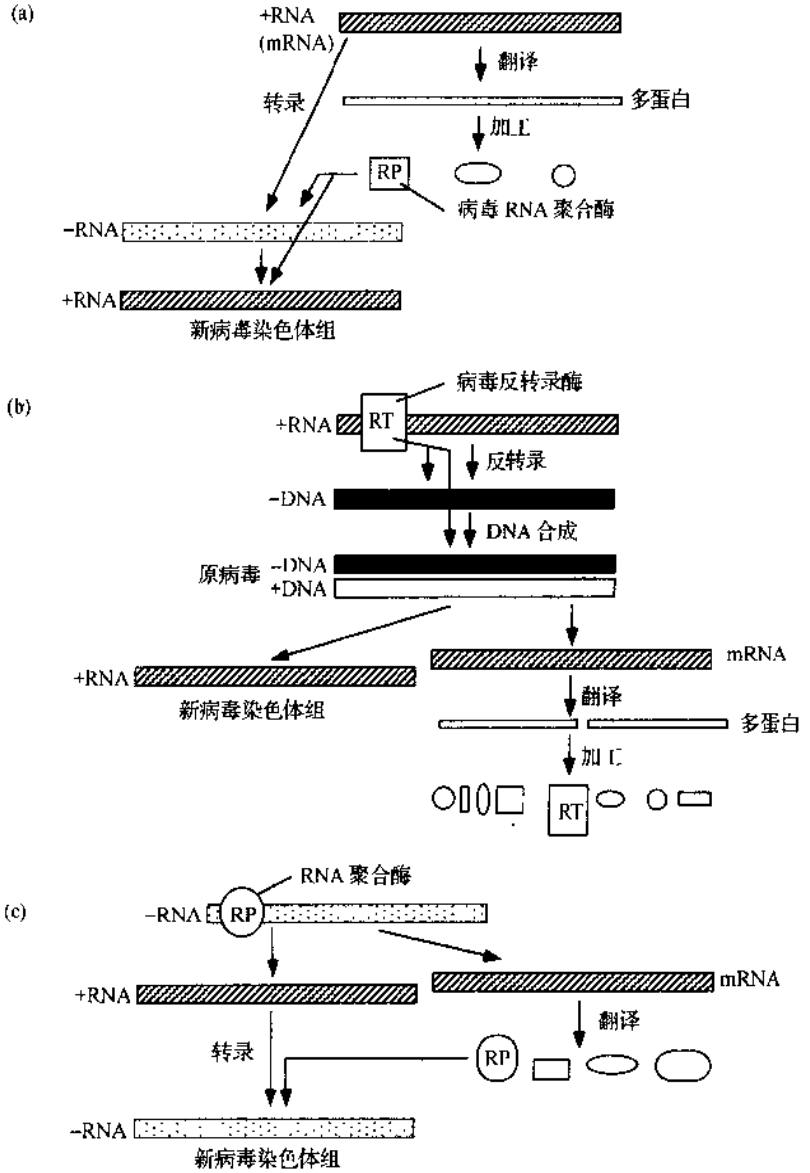


图 10－3　单链 RNA 病毒的复制。（a）细小核糖核酸病毒，披膜病毒和黄病毒具有＋ssRNA 基因组。＋RNA翻译产生的多蛋白是 RNA 聚合酶的来源。RNA 聚合酶合成－RNA（负 RNA），再以－RNA 为模板转录新的病毒基因组；（b）反转录病毒也有正 ssRNA 基因组。作为病毒体一部分的反转录酶使＋RNA 转变成 ssDNA。同样的反转录酶使 ssDNA 合成 dsDNA。dsDNA 成为原病毒特异产生新病毒基因组，而＋RNA 作为 mRNA；（c）正黏病毒和负黏病毒是－RNA 病毒，本身携带了依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶。合成的＋RNA 作为 mRNA 和模板合成新的－RNA 基因组。

以 RNA 或 DNA 作为模板合成和正 RNA 基因组互补的单链 DNA。和反转录酶相关的另一个酶即**核糖核酸酶 H**(ribonuclease H)在 RNA-DNA 杂交体中消化掉 RNA。随后，反转录病毒合成和第一条链互补的 DNA 链。得到的双链病毒 DNA 整合到寄主 DNA 上。整合后的 DNA 即原病毒。新的正 RNA 转录物专指病毒蛋白质。一些全长正 RNA 成为部分在质膜上形成的新病毒子代。

10.13　单链负 RNA 病毒是如何复制它们的核酸的?

单链**负 RNA**(minus RNA)病毒具备的核酸是不能被翻译的(图 10-3c)。负 RNA 链作为模板合成正 RNA，正 RNA 即可起 mRNA 的作用。从 mRNA 翻译的蛋白质可促进全长正 RNA 链的合成，全长**正 RNA**(plus RNA)链可作为模板合成全长负 RNA 基因组链。通常，病毒将合成病毒 mRNA 的依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶带进细胞。特异的信使 RNA 拼接得到多 mRNA，来自 RNA 相同部分的每一个都编码不同的蛋白质。

☞ **例 10.5**

从正 RNA 模板合成新负 RNA 基因组的病毒包括正黏病毒(流感)、副黏病毒(麻疹)、bunyaviruses(脑炎、脑膜炎、出血热)、沙粒病毒(脑膜炎、出血热)和弹状病毒(狂犬病)。

10.14　双链 RNA 病毒是怎样合成它们的基因组的?

双链 RNA 病毒的基因组是分开的。这些病毒具有依赖于双链 DNA 的 RNA 聚合酶用来转录它们的基因组(图 10-4)。RNA 片段和 mRNA 分子特异性地只编码一个蛋白质。这些病毒复制其双链基因组的方式是：产生许多正 RNA 拷贝但不被翻译，而是以正 RNA 作为模板合成互补的负 RNA 链。

☞ **例 10.6**

线状双链 RNA 病毒的例子有：呼肠病毒(没有知道的人类疾病)由 10 个片段组成，轮状病毒(婴儿腹泻和肠炎)有 11 个不同片段，环状病毒(科罗拉多蜱热)有 10 个或 12 个不同片段。

10.15　单链 DNA 病毒如何复制它们的基因组?

细小病毒是具有线性单链 DNA 基因组的病毒体的例子。这些病毒是不寻常的，因为它们可以有意义或反义 DNA(图 10-5)。**有义 DNA**(sense DNA)可以作为模板合成 mRNA，而**反义 DNA**(antisense DNA)不能起模板的作用。有义 DNA 可以直接被转录，而反义 DNA 必须作为模板合成有义 DNA 链。

细小病毒在寄主的核内进行有义链的合成(如果需要)和 DNA 的复制。通过寄主 RNA 聚合酶进行的转录过程可以和通过寄主 DNA 聚合酶进行的 DNA 复制过程同时发生。细小病毒基因组的两端都有大小为 115 到多于 300 个碱基的序列，此序列可以自我折叠形成是回文序列的发夹结构(图 10-5a,b)。回文序列是当从回文的任一末端的相反方向阅读时都有相同的核苷酸序列的双链 DNA 片段。

和病毒基因组互补的 DNA 链的合成开始于其 3′末端的自我折叠。这样一来，3′末端的回文序列就可作为引物合成互补链。当连接酶填补了缺口，末端被连接后就得到了双链 DNA 分子。发夹末端被专门切末端的发夹序列的限制性内切核酸酶除去。经过一系列复杂的 DNA 链分离和 DNA 复制得到了长度加倍的双链分子。DNA 复制需要寄主细胞的

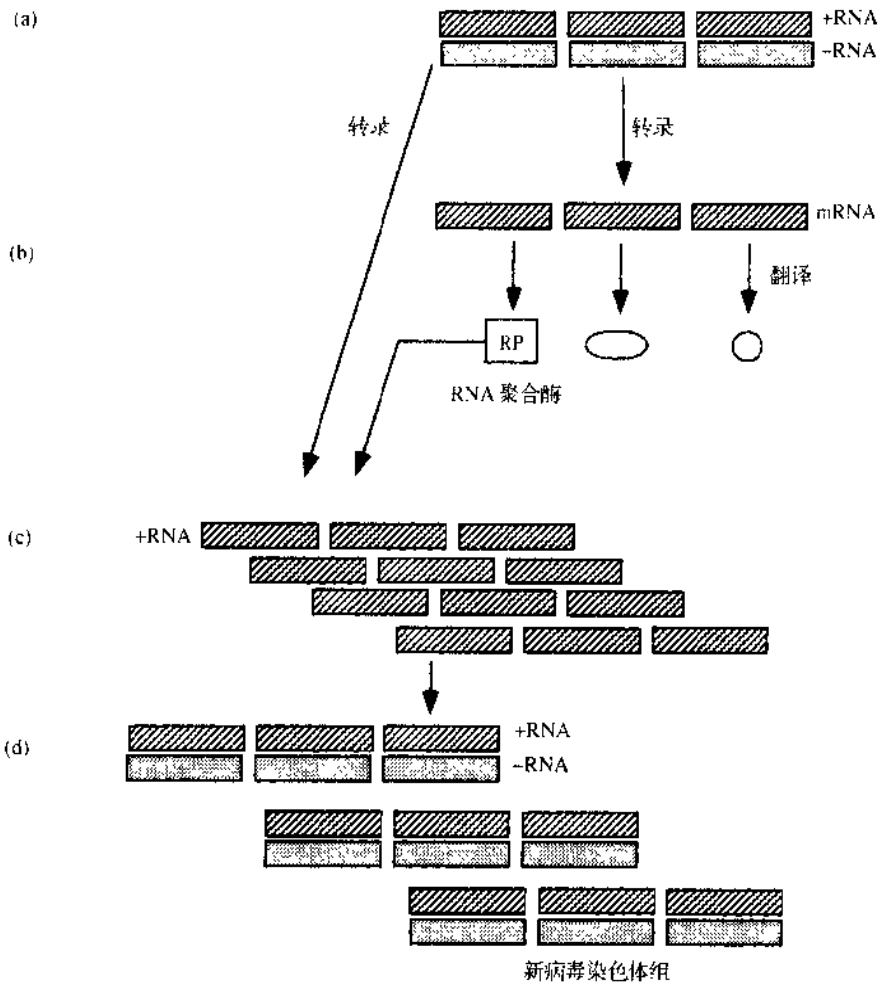


图 10-4　双链 RNA 病毒的复制。呼肠病毒、轮状病毒和环状病毒是双链 RNA 病毒。(a)～(b)这些病毒利用负链作为模板合成 mRNA，然后翻译成病毒蛋白质；(c)～(d)病毒基因组的复制通过合成+RNA 模板，然后在此基础上合成负链。

DNA 聚合酶 δ。

10.16　双链 DNA(dsDNA)病毒如何复制它们的基因组?

双链 DNA 病毒可以分成两类：那些在寄主核内复制 DNA 的和那些完全在寄主细胞质中复制的。

尽管 dsDNA 病毒在寄主核内复制基因组的方式有很大的不同，但还是可以进行一些一般性观察。病毒 DNA 的转录和病毒蛋白质的合成使 DNA 复制能够发生(图 10-6a,b)。这个最初的转录被称为**早期转录**(early transcription)。腺病毒有线性双链 DNA 基因组，并有它们专门的 DNA 聚合酶。乳头瘤病毒有环状双链 DNA 基因组编码一个能启动由寄主 DNA 聚合酶进行复制的刺激蛋白。疱疹病毒的线性双链 DNA 基因组能在 DNA 复制过程中环化。它们的基因组至少编码七个病毒 DNA 复制所需的蛋白质。在 DNA 复制后面的一轮转录被称为**晚期转录**(late transcription)，晚期转录对于病毒结构蛋白的合成和子代病毒体的装配是必需的。

痘病毒(包括天花)在寄主细胞质中转录和复制其 DNA(图 10-6c)。病毒基因组由大(86 000bp)的线状双链 DNA 组成，并在链的两端被连接。早期转录，mRNA 盖帽和加 polyA 尾巴发生在病毒体的髓部，髓部就是被定义为**髓部膜**(core membrane)的病毒中心的致密区。早期病毒 mRNA 穿过髓部膜进入细胞质翻译。其中一个早期蛋白质破裂髓部膜，并引起病毒

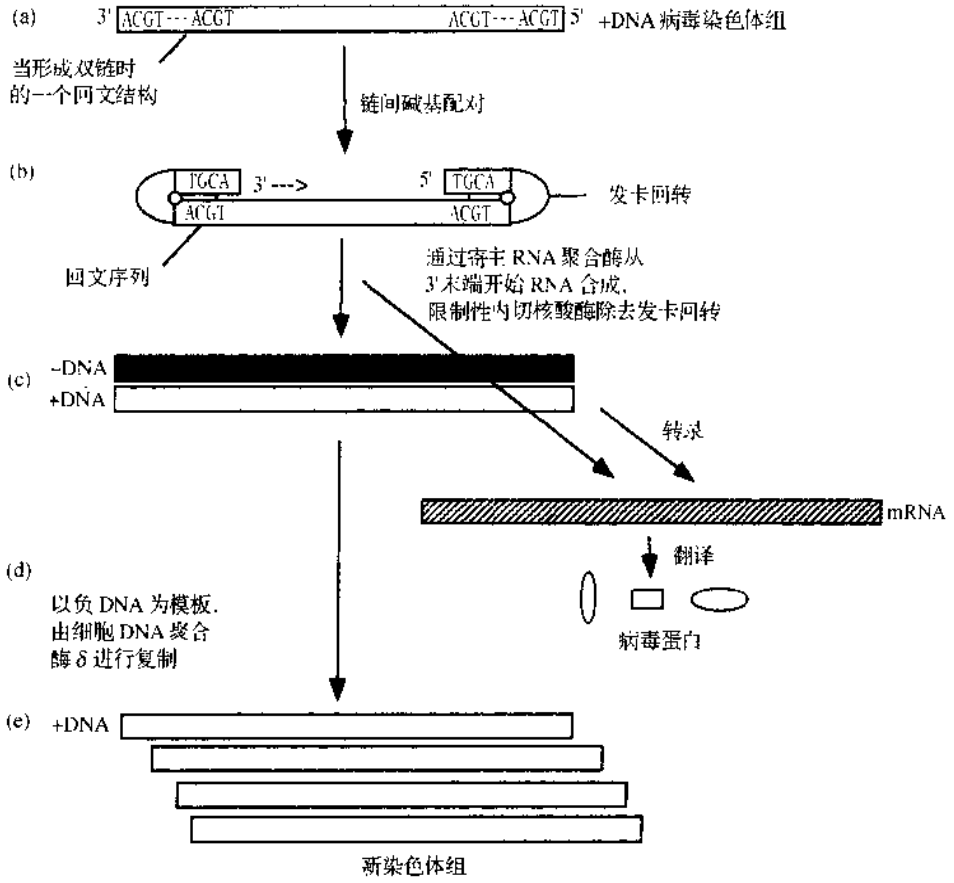


图 10－5　单链 DNA 病毒的复制。细小病毒科中有单链 DNA 病毒的例子。(a)这些病毒可以有＋DNA 基因组;(b)由于互补碱基对之间的氢键而在每个末端形成了一个发夹结构。图中显示了有回文结构的假拟发夹序列;(c)DNA 合成和一系列复杂的过程导致了双链分子的产生;(d)转录可以从形式(b)也可以从(c)开始;(e)从双链 DNA 合成＋ssDNA 基因组。

基因组的释放。另一个早期蛋白质作为复制所需的 DNA 聚合酶。

随着病毒 DNA 从髓部释放,DNA 在细胞质中复制。痘病毒 DNA 的复制可发生在去核的细胞中,这说明:痘病毒可合成其自身的激活物和 DNA 聚合酶。线形的双链 DNA 在其末端被发卡环所封闭。有一个模型认为:DNA 可在数个有切口的位点进行复制。在染色体末端的回文结构(可形成发卡结构)是 DNA 复制所必需的。

10.17　病毒的最后一个阶段是什么?

病毒蛋白质和病毒核酸的联合引起病**毒体的合成**(virion synthesis)或说**形态发生**(morphogenesis)(图 10－2g)。一般来说,无包膜的病毒在寄主细胞质中积聚直到寄主细胞破裂和全部病毒子代同时释放。**释放**(release)是无包膜病毒繁殖的最后一步,并因此和病毒体形态发生区分开来。

许多有包膜的病毒的形态发生是和它们的释放密切相关的。很多有包膜病毒是在质膜内表面上形成的。质膜中核壳和病毒蛋白质的结合引起**质膜出芽**(plasma membrane budding)(图 10－2j)。当芽从细胞膜上脱落下来就得到有包膜病毒体(图 10－2k)。一些有包膜病毒在核内膜或内质网而不是在质膜上形成。结果,这些病毒从核膜或内质网处获得包膜,它们的形态发生和释放无关。

例 10.7

疱疹病毒在内核膜上形成,并通过内核膜出芽到膜间隙而获得它们的包膜。为了脱离细

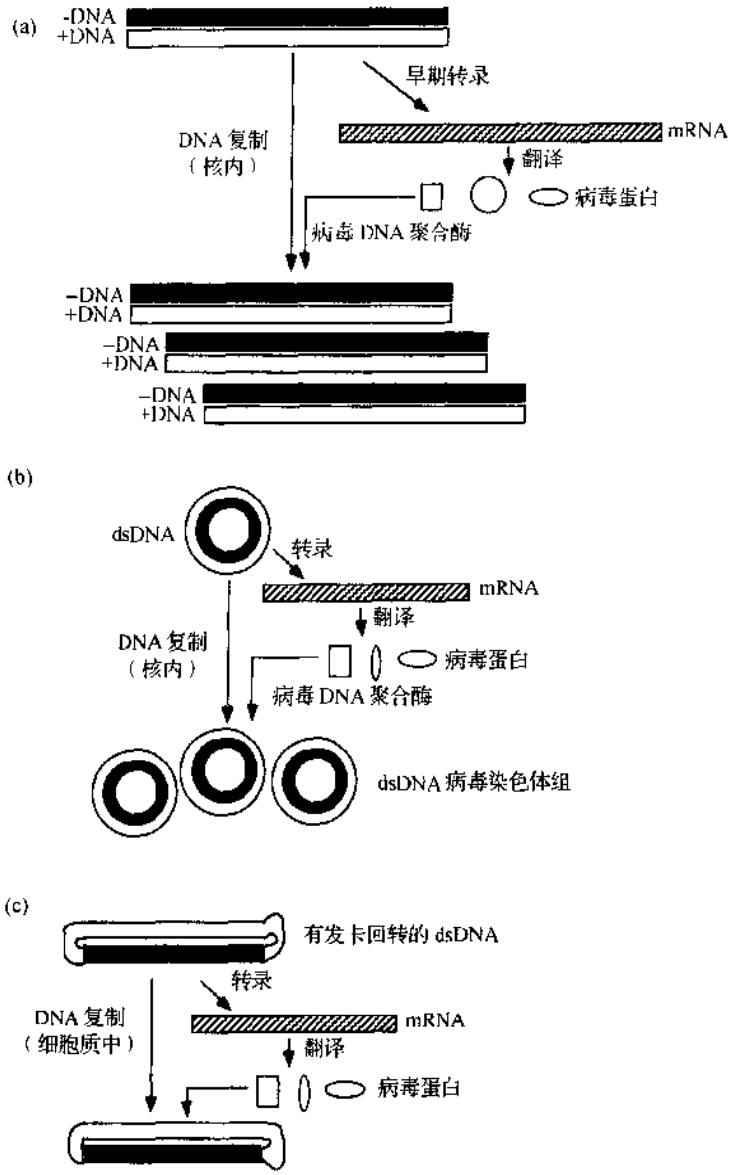


图 10-6　双链 DNA 的复制。(a)腺病毒具有线性 dsDNA 基因组。早期转录和翻译产生病毒 DNA 复制所需的 DNA 聚合酶。DNA 的复制开始于基因组的末端;(b)乳头瘤病毒在病毒体内有环状 dsDNA 基因组,而疱疹病毒的线性 dsDNA 基因组只有在寄主内脱壳后才环化。早期转录和翻译产生的 DNA 聚合酶涉及 DNA 的复制。乳头瘤病毒在 DNA 合成起始处只有一个 *ori* 位点。单纯疱疹病毒有三个 *ori* 位点。巨细胞病毒可能有一个以上 *ori* 位点且通过滚环机制进行复制。非洲淋巴瘤病毒只有一个 *ori* 位点;(c)痘病毒具有发夹末端的线性 dsDNA 基因组。

胞,它们通过出芽穿过外核膜并获得第二个包膜,然后扩散到质膜。在质膜,第二个包膜和质膜融合并释放在内核膜上形成的有包膜的病毒体。

☞ 例 10.8

当滑面内质网出芽到 ER 腔内时,具有分开的基因组的冠形病毒在滑面内质网上形成。病毒体通过从 ER 伸出的芽并和高尔基体融合的小泡从 ER 到高尔基体。通过后-高尔基体,含病毒体的小泡和细胞质膜的融合,病毒体从细胞中释放。

10.18　什么是反转录病毒?

反转录病毒(反转录病毒科)是有膜病毒体,它有一个含两个相同染色体的髓部。核壳被

一个螺旋形或二十面体结构的衣壳包围。这些病毒的两个相同染色体是线性单链正 RNA 分子。这些病毒独特的特点之一就是在它们髓部中的有 RnaseH 活性的反转录酶。利用病毒的正 RNA 作为模板，此酶可以催化双链 DNA 基因组的合成(图 10－7)。dsDNA 基因组比原始的正 RNA 模板要大，在病毒基因的边缘处有长末端重复序列(LTR)。基因表达和复制需要 dsDNA 成为其中一个寄主染色体的原病毒。原病毒转录产生单链正 RNA，此单链正 RNA 被翻译并作为新病毒染色体。

反转录病毒科又被分为三个亚科：spumaviridae、慢病毒科和肿瘤病毒科。spumaviridae

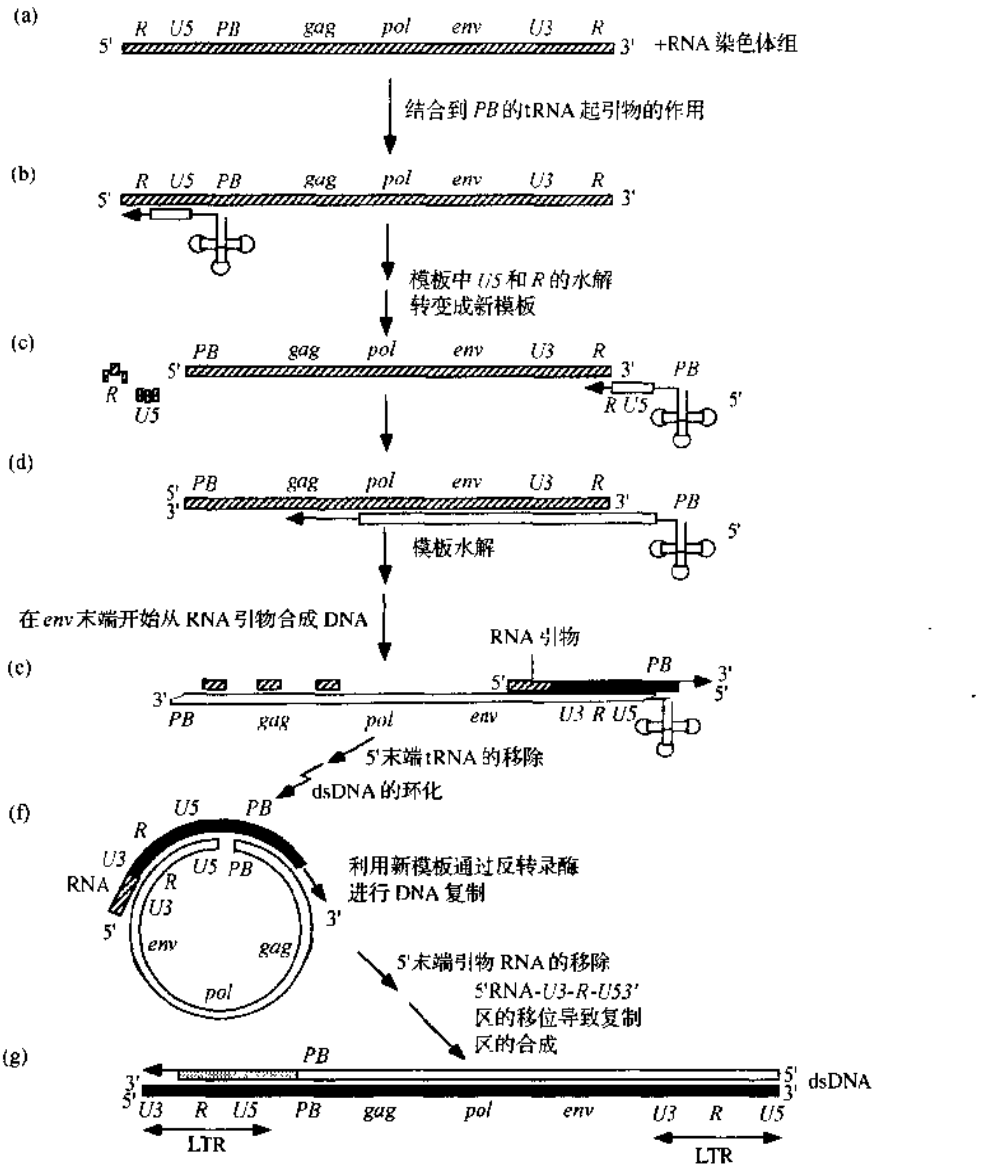


图 10－7　单链 DNA 变成双链 DNA。(a～b)图中例举了一个典型反转录病毒的＋ssRNA 染色体。左端由 *R*，*U5* 和 *PB* 区组成，而右端仅具有 *U3* 和 R 区。为了简便起见，图中只显示了 3 区(*gag*、*pol*、*env*)编码的蛋白质。DNA 合成开始于＋ssRNA 的左端并从结合到 *PB* 区的 tRNA 引物开始。反转录酶以 tRNA 为引物，以 ssRNA 染色体的左端为模板合成 *R* 和 *U5*DNA 拷贝；(b～c)反转录酶的 RNaseH 活性在病毒 RNA 的 *R* 和 *U5* 区作为模板后破坏掉它们。新合成的 DNA－tRNA 变换模板，氢联结到 *R* 区的右端；(c～d)反转录酶以＋RNA 链作为模板，以 DNA－tRNA 链作为引物合成－DNA 链；(d～e)反转录酶的 RNaseH 活性破坏 RNA 模板，除了在 RNA 末端的 *env* 区，此区将作为引物合成＋DNA 链。反转录酶从 *env* 区末端的一小段 RNA 合成＋DNA 链部分；(e～f)原始 tRNA 引物从－DNA 链上切除，暴露出 DNA 互补片段的 *PB* 区。新暴露的右端 *PB* 区氢键结合到左端 *PB* 区，使分子环化。环化的分子为反转录酶提供了新引物合成 dsDNA；(f～g)在 DNA 合成过程中，5′RNA－*U3*－*R*－*U5* 区的移动导致 *U3*－*R*－*U5* 区的复制，使得在原病毒的两端都能找到它。这些区就是长末端重复序列(LTR)。左端的 LTR 作为引物区。

不引起人类临床疾病，但会引起细胞质中泡沫（来自拉丁 *spuma*）状的特征性液泡产生。**人泡沫病毒**（human foamy virus，HFV）就是 spumavirus 的例子。**慢病毒**（lentivirus）致病需要很长时间，因此被称为**慢病毒**（slow virus）。引起两种不同类型**获得性免疫缺陷综合征**（acquired immunodeficiency syndrome，AIDS）的人**免疫缺陷病毒**（human immunodeficiency virus，HIV-1 和 HIV-2）就是慢病毒。**肿瘤病毒**顾名思义，可在不同组织内引起肿瘤和癌症，因为它们携带了癌基因。

癌基因（oncogene）表达的特定产物能转化细胞且有致癌作用。**劳斯肉瘤病毒**（Rous sarcoma virus，RSV）是研究得最多的致癌病毒之一，它带有 *src* 癌基因（图 10-8c）。因为 *src*、

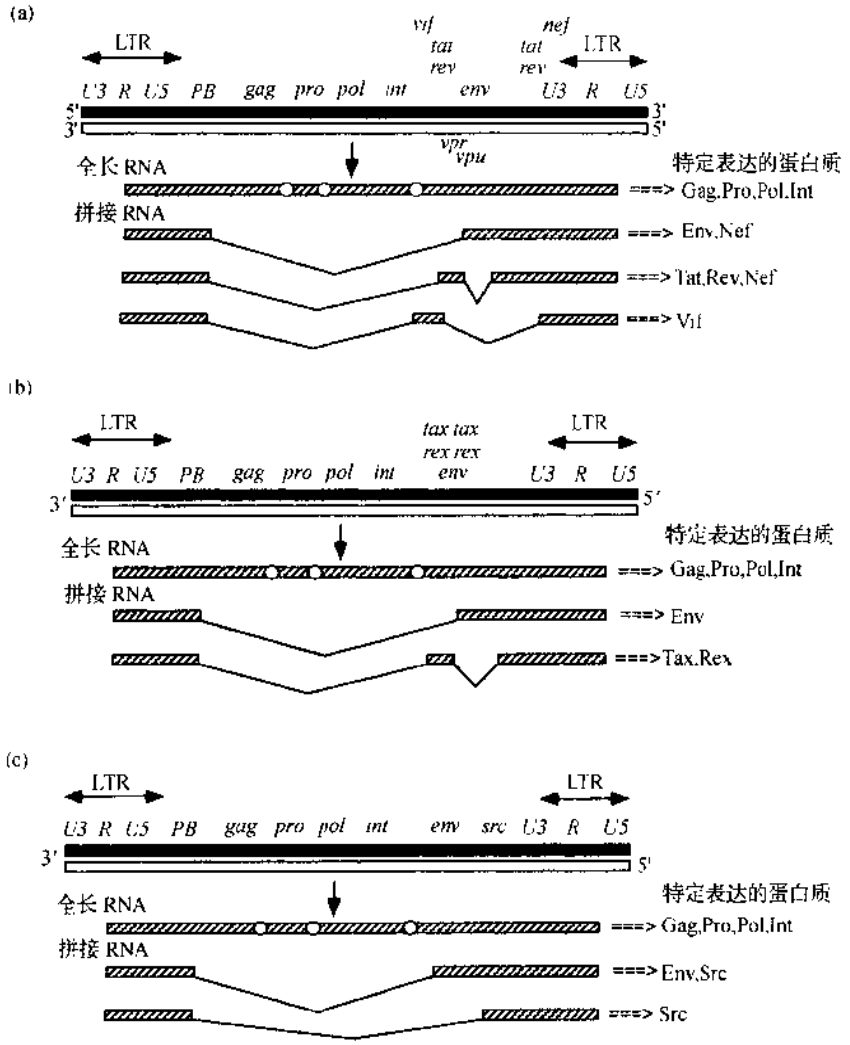


图 10-8 原病毒 RNA 的转录和拼接。(a)人免疫缺陷病毒（HIV）的原病毒用 LTR 和一系列区相连接表示。转录开始于左端 LTR。全长转录物通常可得到大量 Gag 多蛋白但仅有少量 Gag-Pro 和 Gag-Pro-Pol-Int 多蛋白，因为在 *gag*、*pro* 和 *int* 后面有终止密码子。在全长 RNA 上的三个终止密码子用开环表示。多蛋白的蛋白酶活性切多蛋白。由只包括 *env* 区的拼接转录物得到的多蛋白产生包膜蛋白。拼接转录物中的外显子用水平线表示。加工的 RNA 用 Vs 和拼接的外显子表示。调节蛋白例如 Tat 和 Rev 的合成需要双拼接转录物，Tat 和 Rev 是由断裂外显子得到的。(b)人 T 细胞嗜淋巴细胞病毒（HTLV）的原病毒用其 LTR 和一系列区相连接表示。HTLV 原病毒编码了许多和 HIV 相同的蛋白质：Gag、Pro、Pol、Int 和 Env。然而，调节蛋白 Tax 和 Rex 与 HIV 染色体编码的不同。HTLV 不产生类似于 Vif、Vpr、Vpu 或 Nef 的蛋白质。转录开始于左端 LTR。全长转录物包括拼接转录物被合成并产生合适数量的 HTLV 蛋白质。终止密码子的位置尚不确定，因此不知道 HTLV 翻译和蛋白加工与 HIV 的有多类似。(c)劳斯肉瘤病毒（RSV）的原病毒包括 LTR 和与其相邻的所有反转录病毒都有的区，以及最初从寄主细胞处获得的一个外源基因。在这个病毒中，外源基因编码蛋白激酶，此酶在蛋白质的酪氨酸上将蛋白质磷酸化。外源基因被认为是癌基因，因为它的产物经常转化正常寄主细胞，从而促进癌在动物中的发展。癌基因由拼接 RNA 的 Env 和 Src 编码。

RSV 容易引起鸡肉瘤(结缔组织癌)。*src* 基因表达的酪氨酸蛋白激酶在酪氨酸残基上磷酸化蛋白质。这些磷酸化作用引起的信号转导通路能激起不恰当的转录和翻译及不合适的细胞增殖(见第 11 章)。引起某些白血病的人 T 细胞嗜淋巴细胞病毒例如 HTLV-Ⅰ和 HTLV-Ⅱ也是致癌病毒。

所有反转录病毒染色体被分成五个区(表 10.1),然而有些反转录病毒(例如 HIV)有更多的区。*Gag* 编码群特异性抗原,核壳蛋白(NC=p7-p9/p15),第二衣壳蛋白(CA=p24)及连接衣壳和包膜的基质蛋白(MA=p17-p18)。*Pro* 表达的蛋白酶是切多蛋白 Gag-Pro 和 Pol-Int 所需要的。*Pol* 决定反转录酶和 RNaseH 活性(POL=p66/p51)。*Int* 编码的整合活性(INT=p32)是病毒 DNA 插入寄主 DNA 所必需的。*Env* 表达的特定多蛋白含包膜蛋白(从 gp160 上切下的 SU=gp120 和 TM=gp41),附着到寄主上且和寄主质膜融合需要包膜蛋白。

表 10.1　HIV 区、基因和蛋白质

区	基因	蛋白质***	功　能	相对分子质量
Ⅰ	*gag**	NC	核壳(第一层覆盖物)	p7-p9/p15
	gag	CA	衣壳(第二层覆盖物)	p24
	gag	MA	基质(第三层覆盖物)	p17-p18
Ⅱ	*pro*	PRO	蛋白酶	p11-p14
Ⅲ	*pol*	POL	反转录酶和 RNaseH(二聚体)	p66/p51
Ⅳ	*int*	INT	整合酶	p32
Ⅴ	*env**	SU	附着蛋白	gp120
	env	TM	跨膜和融合蛋白	gp41
Ⅵ	*tat*	TAT	反式激活蛋白的转录或反弱化子结合到 LTR 左端的 R 位置上(*U3-R-U5*)	p14
Ⅵ	*rev*	REV	基因表达的调节物,促进全长和一个个拼接的 RNA 运动到细胞质。结合到 *env* 内的位置。	p19
Ⅷ	*nef*	NEF	是通过使结合到 *U3* 的 NFκB 解脱而促进 HIV 转录的负因子。Nef 促进 CD4 从质膜上切除。	p27
Ⅸ	*vif*/*sor***	VIF 或 SOR	病毒体感染因子/短可读框。通过蛋白水解修饰 ENV 正面影响感染性。	p23
Ⅹ	*vpr*	VPR	VPR 是病毒体在巨噬细胞中生长所需要的成分。作为病毒基因的反式激活蛋白起作用。	p18
Ⅺ	*vpu*	VPU	VPU 是引起 ER 上 CD4 降解的病毒体成分。是正常出芽和大小所需的。	p15

* 由此区产生的多蛋白;p=蛋白质;gp=糖蛋白;两个相对分子质量之间的斜杠(p66/p51)表示一个蛋白质被加工成两个不同大小的蛋白质;两个相对分子质量之间的对开线(p7-p9)表示文献报道的变化。

** 同一基因的两个不同符号。

*** 在科技文献中,蛋白质缩写的所有字母通常都大写。

10.19　癌病毒例如人嗜 T 淋巴细胞病毒(HTLV-Ⅰ和 HTLV-Ⅱ)是如何区别于以人免疫缺陷病毒(HIV-1 和 HIV-2)为代表的慢病毒的?

当癌病毒例如人嗜 T 淋巴细胞病毒随机插入到寄主细胞内形成原病毒时,它们经常会在寄主细胞内破坏基因表达。此破坏作用称为**插入诱变**(insertional mutagenesis),可以解释 HTLV-Ⅰ是如何引起 T 细胞白血病、淋巴瘤和神经紊乱的。没有哪个癌症是和 HTLV-Ⅱ完全相关的。

除了 *gag*、*pro*、*pol*、*int* 和 *env* 区,HTLV 还有一些特殊基因能精细调控它们的发育。*Tax* 和 *rex* 表达的蛋白质控制转录(图 10-8b)。这些病毒基因还影响寄主基因的表达,可以

引起细胞退化和促进肿瘤发育。Tax 和激活寄主转录的转录激活物 NFκB(核因子 Kappa bee)相互作用。已显示,Tax 引起白细胞介素受体的基因达到高水平。**白细胞介素**(interleukin)是促进细胞分化和增殖的生长因子。不合适的基因使细胞对邻近细胞产生的白细胞介素敏感。组成型复制增加了信号转导通路突变的机会和促进了癌细胞的生长发育。

人免疫缺陷病毒例如 HIV-1 和 HIV-2 是慢病毒。它们进行的是潜伏感染,在病症严重前可以维持 10 到 20 年。HIV-1 引起更严重的获得性免疫缺陷综合征(AIDS),通常在感染后 10 年时杀死寄主,因为其更高的复制和在淋巴结中引起的细胞破坏率。HIV-2 显然引起的是更温和的 AIDS,通常在感染后 15～20 年杀死寄主且有较低的病毒合成率。在 HIV-1 和 HIV-2 流行的西非,HIV-1 在生育年龄妇女中的流行从 1988 到 1992 几乎加倍(5%→9.2%),而 HIV-2 的流行降低了 40%(2.6%→1.5%)。

HTLV 和 HIV 在身体结构上是不同的。电镜显示 HTLV 的衣壳是二十面体对称结构,而 HIV 的衣壳是螺旋形对称结构。除了 *gag*、*pro*、*pol*、*int* 和 *env*,人免疫缺陷病毒(HIV-1 和 HIV-2)还含有控制病毒发育的调节基因 *tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu* 和 *nef*(图 10-8a,表10.1)。HTLV-Ⅰ(9.032kb)和 HTLV-Ⅱ(8.952kb)的染色体稍微小于 HIV-1(9.4kb)和 HIV-2(9.2kb)的染色体。以下主要讨论 HIV-1。

10.20 HIV 是怎样吸附并感染细胞的?

慢病毒例如 HIV 有一个**附着蛋白**(attachment protein)gp120(SU),附着蛋白以非共价键结合到**跨膜蛋白**(transmembrane protein)gp41(TM)上(表 10.1)。gp120 附着到特殊受体蛋白 CD4 上,CD4 在辅助细胞 T 淋巴细胞、单核细胞和巨噬细胞上。当 gp120 结合到 **CD4 受体**(CD4 receptor)上,gp41 上的疏水区开始暴露并使其能插入到细胞质膜中,从而引起病毒膜和细胞质膜融合。病毒膜和细胞质膜的融合使病毒体的剩余物(外层衣壳和核壳)释放到细胞质中。这样一来,慢病毒是通过和质膜融合(膜融合)而不是胞吞作用进行感染。

10.21 当 HIV 的 RNA 进入合适寄主的细胞质中时会发生什么?

一旦进入细胞质中,HIV 的反转录酶和(正 RNA 染色体的两个拷贝发生联系),就开始从 tRNA 引物合成负 DNA 链(图 10-7b)。反转录酶利用结合到接近 RNA 染色体 5′末端的 PB 区的 tRNA 引物将脱氧核苷酸聚合成 DNA。反转录酶的 RNaseH 活性在模板(R 和 U5 区)被读后切掉模板(图 10-7c)。这就促进了剩余 RNA3′末端的 *R* 区和新生 DNA 互补 R 区之间的杂交。反转录酶重新启动负 DNA 合成并复制"新"的模板。这种模板的变化有时被称为**模板选择 DNA 合成**(copy-choice DNA synthesis)。膜板选择 DNA 合成导致负链 DNA-tRNA 和下列区域杂交:*3′PB-gag-pol-env-U3-R-U5-PB*-tRNA5′(图 10-7d)。当反转录酶延长 DNA-tRNA 链,它的 RNaseH 活性就切掉 RNA 模板(图 10-7e)。

只有 RNA 模板的一部分,仅 5′端的 *U3* 区作为 RNA 引物合成 DNA 的第二条链(图 10-7e)。正 DNA 链从含下列区域的 RNA 引物合成:5′RNA 引物-*U3 R U5 PB* 3′。*U3 R U5* 区是一个长末端重复序列(LTR)。双链 DNA 的环化(图 10-7f)为合成一个线性双链 **DNA 中间体**(DNA intermediate)(图 10-7g)提供了引物和模板,DNA 中间体将被用来复制病毒 RNA 染色体。感染后 4～8 个小时,DNA 中间体在细胞质中的病毒衣壳内被合成。DNA 中间体合成后不久就被输送到寄主细胞核。这是怎样完成的尚不知道。

10.22 RNA 染色体的 DNA 复制物是怎样变成原病毒的?

在核中观察到的一些 DNA 中间体包括在两端都有 LTR 的线性分子,以及含一个或两个 LTR 的共价闭环(图 10-7g)。线性 DNA 中间体被认为是插入寄主染色体的最有效的形式。它由下列区组成:*U3-R-U5-PB-gag-pol-env-U3-R-U5*。线性 DNA 中间体的每条链的 3′末端被**整合蛋白**(intergration protein,Int)切入两个碱基。同样的病毒酶以交错的方

式切和病毒 DNA 互补的寄主 DNA 中的靶，并使两个 DNAs 都产生交错末端。在 *U3 - R - U5* 左端的是含所有 HIV 转录启动子的长末端重复序列(LTR)(图 10 - 8a)。

10.23　反转录病毒在哪儿开始和终止转录？初级转录物的结构是什么？转录物是怎样被修饰的？

转录开始于每个反转录病毒的左端 LTR；更明确地说是从 *R* 区开始(图 10 - 7)。**RNA 聚合酶-Ⅱ结合位点**(RNA polymerase - Ⅱ binding site)(启动子)位于 *U3* 的 TATA 框和 R 的转录起始位置之间。HIV 的 *U3* 区有寄主 **TATA 结合蛋白**(TATA binding protein，TBP)的结合位点(TATA 框)及一些激活剂/增强子和阻抑物结合位点：激活剂结合到 GC 框，增强子 NFκB 结合到 NFκB 位点，还有一个未鉴别的负调节因子(曾被认为是负调节因子 Nef)结合到**负调节元件**(negative regulatory element)即 NRE 位点。NRE 位于 *U3* 区内，离 *R* 区 300bp 左右。实际上，Nef 通过促进被感染细胞对 CD4 的胞吞作用而促进 HIV 的繁殖，从而阻止了在感染细胞表面的抑制 CD4 - gp120 复合体和**多核体**(syncytia)(很多细胞融合形成的大的多核细胞)的形成。Nef 还通过间接激活酪氨酸激酶刺激 T 细胞内的信号转导通路。信号转导通路使 NFκB 摆脱其阻抑物从面激活 NFκB。NFκB 激起 HIV 转录。Nef 在生产性感染中促进了 5 倍～20 倍的增加。Nef 的缺损导致抑制 CD4 - gp120 复合体的形成，最小限度通过 NFκB 刺激病毒转录和生产性感染的减少。抗终止子蛋白 Tat 结合到病毒 mRNA 的 TAR 位点上并阻止转录提前终止。TAR 位点在左端 LTR 的 *R* 区。Tat 的缺损使 TAR 和 RNA 聚合酶相互作用并终止转录。Rev 促进全长和一个个拼接的病毒 RNA 从核运动到细胞质。Rev 在 *env* 区的一个位置上结合到 RNA 上。Rev 的缺损导致没有细胞质 RNA 表达 *Gag*、*Gag - Pro*、*Gag - Pro - Pol - Int* 和 *Env* 多蛋白。

在所有反转录病毒中，新生正 RNA 的长度超出了右端 LTR，但由于在 R - U5 边界处加入了 3′polyA 链而缩短(图 10 - 8)。正 RNA 的 5′末端被加了一个 7′-甲基鸟嘌呤核苷的帽子。全长转录物含以下区域：m7GpppGm - *R - U5 - PB - gag - pro - pol - int - env - U3 - R - polyA*。一些全长 RNA 被拼接，产生的 RNA 专门为了包膜蛋白质的合成。在具有调节基因的更复杂的反转录病毒中，全长 RNA 拼接了两次，得到的 RNA 表达以下调节蛋白：Vif、Tat、Rev 和 Nef(图 10 - 8a)。

RSV 不表达特定的调节蛋白(例如 Tat、Rev、Nef)，意味着它在 R 区缺乏弱化作用位点和在 *env* 区缺乏 mRNA 易位抑制位点，以及它没有抑制寄主受体-病毒附着蛋白复合体形式(图 10 - 8c)。RSV 的某些突变体具有表达酪氨酸激酶的寄主-获得基因(*src*)。当过度表达时，此蛋白促进不恰当的基因表达和寄主细胞不正常的繁殖，经常在鸡中导致恶性生长。一个或更多含 *src* 癌基因的拼接转录物被翻译。

10.24　在被反转录病毒感染的细胞中，蛋白质合成的某些特性是什么？

在所有反转录病毒感染的细胞中，全长 RNA 的翻译多半只产生多蛋白 Gag，因为就在 *gag* 终止翻译后是一个无义密码子(图 10 - 8)。当在 *gag*&*pro* 和 *pro*&*pol* 之间有无义突变的**移码抑制**(frameshift suppression)时会产生少量 Gag - Pro 和 Gag - Pro - Pol - Int 多蛋白。Pol 蛋白产生的数量是 Gag 的 1/10～1/20。

多蛋白的蛋白酶活性通过在 Gag - Pro 和 Gag - Pro - Pol - Int 中的自动催化作用，使 Gag 和 Pro 分开和使 Pro 和 Pol - Int 分开。在 HIV 中，蛋白酶的切割使 Gag 进入核蛋白(NC＝p7)、衣壳(CA＝p24)蛋白和基质(MA＝p18)蛋白(表 10.1)。蛋白酶还使 Pol(反转录酶＋RNaseH)和 Int(整合酶)分开。反转录酶和 RNaseH 活性并没有分开，而是同时存在于 Pol 内。几乎所有 Env 都是从只表达 Env 的已加工的转录物合成的(图 10 - 8)。

env 区表达的多蛋白进入内质网，穿过高尔基体，到达质膜。多蛋白到达质膜后，多蛋白切入到跨膜蛋白(TM＝gp41)和附着蛋白(SU＝gp120)(表 10.1)。

HTLV 和 RSV 感染的细胞的蛋白合成被认为和 HIV 感染的细胞类似。在 *gag*、*pro* 和 *int* 后面的无义密码子能有效阻止下游基因(在 RSV 中是 *env* 和 *src*)的翻译。结果就是,这些基因只能从拼接的 RNA 翻译。

在某些反转录病毒如鼠白血病病毒(MLV)中,*gag* 和 *pro* 区相邻并在相同的翻译读框里。*gag* 和 *pro* 被框内终止密码子分开。HIV、HTLV 和 RSV 有重叠的 *gag* 和 *pro* 区并在不同的读框内。为了表达 *pro*、*pol* 和 *int* 基因产物,这些病毒依赖于**核糖体移码**(ribosomal frameshifting)机制去避免在 *gag* 区末端的无义密码子。据报道,小鼠乳腺瘤病毒有两个分开的移码去避免在 *gag* 末端及在 *pro* 和 *pol* 之间的无义密码子。

致癌病毒

10.25 什么是癌基因?病毒进入正常细胞后是怎样促进癌发展的?

多数**癌基因**(oncogene)突变或不恰当地表达细胞基因(正常细胞基因称为原癌基因,它们的产物称为原癌蛋白),这些细胞基因表达在信号转导通路中的特定蛋白。**癌蛋白质**(oncoprotein)是癌基因产物,它们在信号转导通路中起作用从而转化细胞,使得细胞无节制地增殖,一般会导致癌生长(例如在实体组织中的恶性肿瘤)。

病毒例如 RSV 具有从正常细胞基因(原癌基因)获得的癌基因,这些病毒被归为肿瘤病毒。肿瘤病毒还包括像 HTLV 的生物,它们尽管没有细胞癌基因,但它们有能促进细胞增殖的病毒基因,这样就使更多细胞在原癌基因上发生突变。这些病毒还可以转化细胞变成原病毒并破坏肿瘤抑制基因或引起正常原癌基因不正常地表达。转化的细胞经常失去控制地增殖,变得可能永生,改变形状,有新的抗原特性和失去**接触抑制**(contact inhibition)。当正常细胞和其他细胞有足够的接触时通常会停止增殖。接触抑制的失去使细胞能漫游到别的组织和器官(转移)并使癌扩散。由于肿瘤病毒携带的癌基因,它们中的大多数能有效且快速地转化细胞(图 10-8c)。某些情况下,癌基因产物是正常蛋白质,但在长末端重复序列(LTR)上的有效病毒启动子的调控下过度生产。通常癌基因产物是异常蛋白质,有时和正常蛋白质的区别只有一个氨基酸的变化,因此不能正常调节。结果是,信号转导通路(第 11 章)的异常成分刺激细胞不正常地表达自己。在几个其他突变后,这种破坏性转化就可以产生癌细胞。尽管多数癌基因来自原癌基因,一些病毒携带的病毒癌基因和细胞基因没有明显的联系。例如,HIV 的 Tat 蛋白可以作为和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)接合过程的信号肽并引起卡波西肉瘤。

10.26 癌蛋白是如何分类的及它们怎样在信号转导通路中起作用?

目前所有已鉴别的癌蛋白可分为 8 类:①肽生长因子;②质膜或细胞质中的生长因子受体;③称为 G 蛋白的 GTP 调节蛋白;④有酪氨酸激酶或苏氨酸-丝氨酸活性的膜受体;⑤有酪氨酸激酶或苏氨酸-丝氨酸活性的细胞质蛋白激酶;⑥作为转录激活剂或促进 DNA 复制的 DNA 结合蛋白;⑦促进蛋白激酶活性的细胞周期蛋白;⑧抑制肿瘤抑制蛋白的蛋白质。

几乎所有在多种信号转导通路中起作用的癌蛋白都开始于一个信号(肽或类固醇激素),终止于转录的激活或 DNA 复制的起始(图 10-9)。癌蛋白超越正常细胞调节并不断发出信号激起基因表达和越过细胞周期。突变机会的增加发生在原癌基因和**肿瘤抑制基因**(tumor suppressor gene)(正常细胞基因削弱或抑制信号转导通路)。原癌基因转变成癌基因越多,细胞就变得越无秩序。同样,肿瘤抑制基因被突变破坏得越多,信号转导通路的不正常表达就越多。

图 10-9 显示了原癌蛋白和癌蛋白在典型细胞中的位置,并显示了它们中的一些在信号转导通路中是怎样彼此与其他蛋白质相互作用的。Sis 表示了不正常表达的肽类激素血小板衍生生长因子(PDGF),这些因子可在细胞外发现。ErbB、Fms、Kit、Ros 和 Sea 代表了膜上的突变受体,它们恰好有结构酪氨酸激酶活性。Src、Abl 和 Yes 是附着到朝细胞质一面的质膜

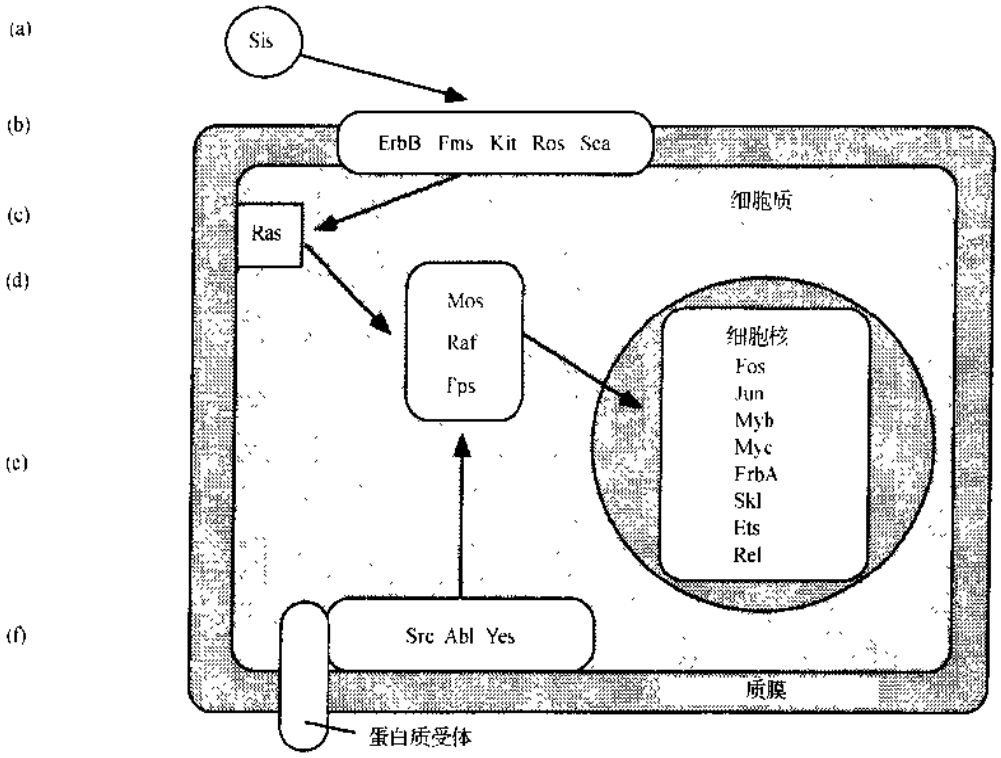


图 10－9　原癌蛋白和异常癌蛋白的位置。(a)癌蛋白 Sis 起外部生长因子的作用。箭头表示在信号转导通路不同成分间的可能连接。(b)癌蛋白 ErbB、Fms、Kit、Ros 和 Sea 起生长因子受体的作用。这些受体位于质膜上。受体的外面部分结合生长因子，而细胞质区域传递信号到细胞内部。许多细胞质区域起酪氨酸激酶的作用。(c)Ras 是单体 G－蛋白，它传递信号到细胞质激酶。(d)细胞质激酶 Mos、Raf 和 Fps 传递信号到核内起作用的蛋白质。(e)蛋白质 Fos、Jun、Myb、Myc、ErbA、Skl、Ets 和 Rel 起转录激活物的作用。(f)酪氨酸激酶结合到面向细胞质的质膜上。

上的膜结合型的结构酪氨酸激酶。Ras 是和膜相关的单体 G 蛋白，它携带信号从受激受体到酶。Mos、Raf 和 Fps 是活性丝氨酸-苏氨酸激酶，它们游离于细胞质中。多数核内癌蛋白是转录激活物，它们的合成是由多种信号和信号转导通路引起的。

10.27　癌病毒携带的癌基因有哪些？这些癌基因产物在感染细胞中是如何起作用的？

尽管癌病毒通常只携带一个癌基因，但它们可以携带任何癌基因。一些癌基因产物在一开始就影响信号转导通路，而其他的则晚一些影响。在下面讨论的信号转导通路的例子中，PDGF＝血小板衍生生长因子，EGF＝表皮生长因子，TGF＝转化生长因子，INF＝干扰素。其他缩写包括：R＝受体，TA＝转录激活物，G＝G 蛋白，PLC＝磷脂酶－C，PLD＝磷脂酶－D，DG＝二酰甘油，PKC＝蛋白激酶－C，MAPKKK＝促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶，MAPKK＝促分裂原活化蛋白激酶激酶，MAPK＝促分裂原活化蛋白激酶，CDPK＝依赖细胞周期蛋白的激酶，TSP＝肿瘤抑制蛋白。单箭头-->表示激活，双箭头==>表示产生，钝箭头--|表示抑制。

例 10.9

猿猴肉瘤病毒(SSV)具有编码肽类激素血小板衍生生长因子(PDGF)的癌基因 *sis*。SSV 感染细胞不正常地产生高水平 PDGF 并从细胞中释放。细胞外的 PDGF 不断启动促进细胞增殖、转化和突变积累的信号。包括 *sis* 基因产物的信号转导通路是：**PDGF**(Sis)--> R --> G --> PLC ==> DG --> PKC --> TA ==> TA 的第二层==>转化。

☞ **例 10.10**

鸟类成红细胞增生病毒(AEV)具有编码表皮生长因子(EGF)受体的癌基因 *erbB*。癌基因在 EGF 缺乏的情况下发出信号,它就是以这样的方式产生变异。ErbB 有酪氨酸激酶活性,甚至没有 EGF 的刺激也有。这样一来,信号转导通路的第一步就不需要了。包括 *erbB* 基因产物的信号转导通路的模式是:EGF --> **R(ErbB)**--> G --> PLC ==> DG --> PKC --> TA ==> TA 的第二层==>转化。

☞ **例 10.11**

Harvey 鼠肉瘤病毒(MSV)具有癌基因 *ras*。*Ras* 癌基因表达一个修饰了的 GTP 结合蛋白(见问题 11.5),此蛋白在没有信号(生长因子)时激活信号转导通路中的酶。不恰当激活的酶在细胞质中产生第二信号分子,引起细胞转化。有转化生长因子 α(TGF - α)的信号转导通路没有 TGF 也可以被激活。由癌基因引起的这种激活可以导致 DNA 复制。包括 *erbB* 基因产物的信号转导通路的模式是:TGF --> R --> **G(Ras)**--> MAPKKK --> MAPKK --> MAPK --> CDPK --| TSP ==> DNA 复制。

☞ **例 10.12**

禽类成髓细胞瘤病毒(AMV)具有 *myb* 癌基因。那是一个已改变的转录激活物,因此在通过信号转导通路时不必再修饰。这样一来,*myb* 编码的癌蛋白直接激活转录并可能激活细胞繁殖。信号转导通路不再被需要,因为 Myb 遵循下列模式:INF --> R --> G --> PLD --> DG --> PKC --> **TA(Myb)**==>转录。

植 物 病 毒

10.28 区分植物病毒的特征是什么?

绝大多数植物病毒都有一个单链线性正 RNA 染色体,其染色体有一个螺旋形的或二十面体对称的衣壳。和这条规则例外的是一些双链 DNA 病毒(花椰菜花叶病毒)、雪茄形病毒(苜蓿花叶病毒)和一些奇特形病毒(弹状病毒是弹形病毒,而双粒病毒组由两个融合的二十面体对称的衣壳组成)。一些有分割的染色体组的植物病毒的一个不寻常的特点是分割开的节段进入分开的衣壳中。衣壳的大小在某些时候有所变化。**生产性感染**(productive infection)(产生烈性子代)需要病毒染色体的所有成分同时感染一个细胞。

☞ **例 10.13**

Almovirus(苜蓿花叶病毒)有分割的染色体组分到不同大小的颗粒中。最大的颗粒 58nm 长并有两个节段(染色体)#1 和#2。中等大小的颗粒的长度大约为最大的 2/3 并有一个节段#3。最小的颗粒长度大约为最大的 1/3 且有节段#4。第四个颗粒的长度大约为最大的 1/2,但它不含 RNA。

正 RNA 植物病毒有只编码 3~4 个蛋白质的小染色体:解旋酶、RNA 复制酶、细胞到细胞的移动蛋白和壳粒。复制酶被认为对于复制型(RF)正 RNA 链和负 RNA 链的解旋和分离是很重要的。在不能利用寄主酶的那些病毒中,复制酶是依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶。细胞

到细胞的**移动蛋白**(movement protein)使病毒 RNA 在植物组织中的散布变得容易。壳粒是衣壳的蛋白亚单位。仅有一个正 RNA 植物病毒豇豆花叶病毒组的外壳有两个特定的壳粒。多数情况下,很难证实植物病毒能表达自己的 RNA 复制酶,因为病毒感染和应激引起寄主编码依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶。复制酶经常由两个部分组成:由病毒染色体决定的部分和由寄主染色体决定的部分。这些蛋白质都不属于应激引起的寄主复制酶。那些不能编码复制酶的病毒不得不依赖寄主的依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶(RNA 复制酶)来复制它们的基因组。

例 10.14

已显示能编码部分或全部 RNA 复制酶的植物病毒包括芜菁黄花叶病毒组(TYMV=*turnip yellow mosaic virus*)和南瓜花叶病毒组(CMV=*cucumber mosaic virus*)。CMV 复制酶由两个病毒编码蛋白(1a 和 2a)和一个 54kDa 寄主蛋白组成。

10.29　讨论烟草花叶病毒的特点和烟草花叶病的起因。烟草花叶病毒是怎样感染细胞的?

不象许多植物病毒依赖昆虫载体感染植物细胞,烟草花叶病毒(TMV)仅依赖于细胞壁的机械损伤。细胞壁的损伤使此病毒能结合到寄主细胞的质膜上。现认为 TMV 通过胞饮作用或胞吞作用进入寄主细胞。病毒的基因组是怎样从内体到达细胞质的尚不知道。

烟草花叶病毒有一个 18nm×300nm 的螺旋形衣壳,它由 4900 个相同的杆状壳粒构成,并有一个直径为 4nm 的中轴通道。长度为 7nm 的长方形壳粒形成了衣壳"壁"。正 RNA 大约嵌入衣壳"壁"5nm(图 10-10)。记住,正 RNA 可以起 mRNA 的作用。衣壳的长度由病毒正 RNA 的长度决定。虽然壳粒可以在体外自发聚集成一个各种各样长度的螺旋形衣壳,但这些结构只有在 pH 值为 4～6 之间才稳定。RNA 增加了衣壳的稳定性,因此 pH 值在 3～9 之间的正常条件下它都是稳定的。病毒 RNA 在病毒体内以螺旋状排列并位于每个壳粒的沟内(图 10-10)。

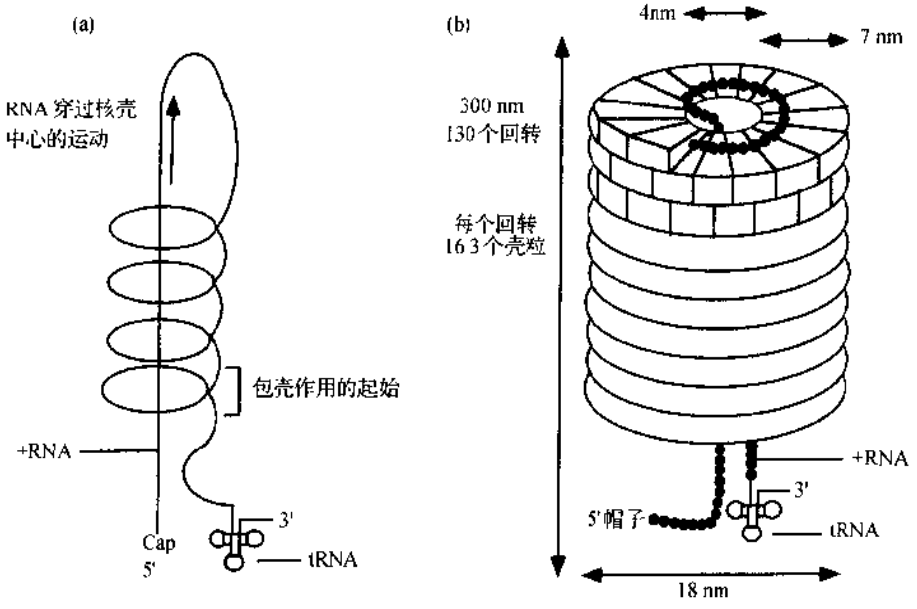


图 10-10　烟草花叶病毒染色体的包壳作用。(a)TMV 有一个含一个 5′帽子和一个类似 tRNA 的 3′区的线性+RNA 染色体。包壳作用从 3′末端开始,由 3′到 5′端进行,直到加了帽子的 5′末端被包入壳中。也有包壳作用从起始位点朝 3′末端进行。(b)壳粒排列在一个长螺旋体内,RNA 位于沿病毒体长度方向的两层壳粒之间。病毒体的最后尺寸是 18nm×300nm。中间有一个直径为 4nm 的中空的中心柱。

正 RNA 染色体在 5′末端加了个⁷mG 的帽子，但在其 3′末端没有 polyA 尾巴。TMV－RNA 的 3′末端类似于细胞的 tRNA，无论是第三结构还是它能被细胞组氨酰- tRNA 合成酶修饰从而在其 3′末端获得一个共价结合的组氨酸。

例 10.15

许多其他植物病毒的 3′末端十分类似 tRNA 并被细胞氨酰- tRNA 合成酶修饰。雀麦花叶病毒和南瓜花叶病毒可以加酪氨酸；芜菁黄花叶病毒组可以通过寄主氨酰- tRNA 合成酶在其 3′末端加入缬氨酸。

10.30　烟草花叶病毒正 RNA 是怎样表达的?

当寄主核糖体在 5′帽子附近开始蛋白合成并剥去壳粒时，RNA 开始翻译。多数翻译在基因组 1/3 处终止，产生标记为 p126 的多肽(图 10－11a)。偶尔，UAG 终止密码子被细胞氨酰-tRNA 抑制，产生命名为 p183 的更长的蛋白。这些蛋白质的功能还不十分清楚，尽管从顺序上它们类似其他蛋白质，p126 代表了解旋酶而 p183 是 RNA 复制酶的一个亚单位。翻译还可以从内部起始密码子开始，产生小的多肽 p30，它对病毒 RNA 在植物中的散布起了一些作用。TMV－RNA 通过**胞间连丝**(plasmodesmata)(连接相邻植物细胞的小的细胞质管道)从细胞到细胞移动。初步调查提示 p30 和胞间连丝发生联系，它结合 TMV－RNA 并帮助其在胞间连丝中扩散。然而，病毒 RNA 通过胞间连丝的机制尚不清楚。

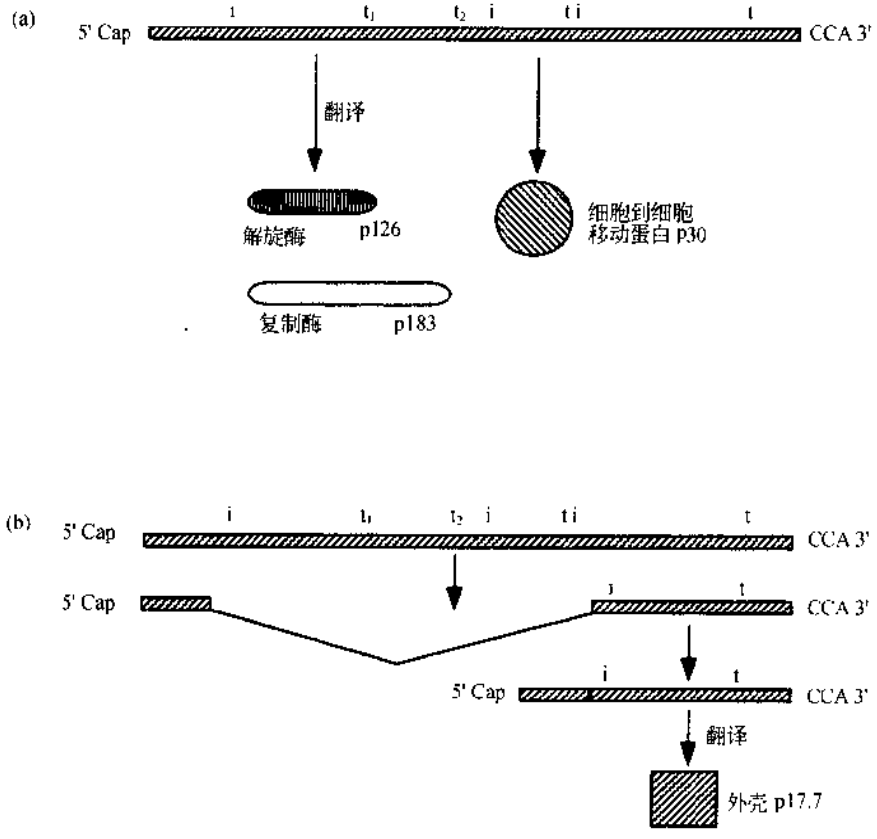


图 10－11　TMV 正 RNA 染色体的翻译。(a) 一个全长＋RNA 染色体通常编码 3 个蛋白质：解旋酶、复制酶和细胞到细胞运动蛋白。解旋酶和复制酶由重叠的区域表达。如果在第一个无义密码子处终止就合成解旋酶，如果在第一个无义密码子处抑制则产生复制酶。复制酶产生后蛋白质合成的重新起动产生细胞到细胞运动蛋白。(I＝翻译的起始，t＝翻译的终止。)(b)由 5′帽子的 3′末端和染色体组成的短 RNA 表达外壳蛋白。

当在病毒染色体组 3′末端编码壳粒蛋白的 RNA 只有全长基因组的一部分时，它不能被翻译。必须通过加工全长正 RNA 合成亚基因组正 RNA 分子(图 10－11b)。很明显，除了起始密码子外还需要 5′帽子和核糖体结合区。

病毒和寄主编码的蛋白质组成的复制酶(依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶)起始了细胞质中病毒负链的合成。双链 RNA 被归为**复制型**(RF)。同样的依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶被认为合成全长正 RNA，并合成负链最后 1/3 的短 RNA。负 RNA 模板和大量新的正 RNA 在被复制过程中称为**复制中间体**(replicative intermediate，RI)。从 RI 得到的短正 RNA 被翻译产生大量病毒体产生所需的壳粒。

10.31　TMV 病毒体是怎样形成的?

壳粒最初聚合为 33 个壳粒组成的双层厚的板。正 RNA 和板上层的沟发生联系，在离 3′末端 800 个核苷酸处的装配起始位点(assembly initiation site)有一个螺旋结构(图 10－10)。新壳粒加在板的上面将 RNA 固定在成长的衣壳壁里。新 RNA 朝 5′末端方向和最新的壳粒发生联系；这样 5′末端穿过轴通道。衣壳也可 RNA 的 3′末端生长，但效率较低。

直到病毒染色体全部衣壳壁中衣壳合成才进行。尽管衣壳聚合没有 RNA 也可发生，但形成的板极不稳定并很快解聚。因为这样，所有 TMV 大约都是同样的长度。

复　习　题

选择题　选择一个最合适的答案。

1. 真核蛋白质中使得它们能够进入内质网的特征结构域是(　)。　(a)终止转移结构域　(b)信号序列　(c)信号序列受体　(d)信号识别蛋白　(e)信号识别蛋白受体
2. 允许真核蛋白质变成整合膜蛋白的结构域是(　)。　(a)终止转移结构域　(b)信号序列肽酶　(c)信号序列受体　(d)信号识别蛋白　(e)信号识别蛋白受体
3. 转移信号序列结构域的酶是(　)。　(a)终止转移结构域　(b)信号序列肽酶　(c)信号序列受体　(d)信号识别蛋白　(e)信号识别蛋白受体
4. *N*－联多糖附着到(　)。　(a)丝氨酸　(b)甘氨酸　(c)色氨酸　(d)半胱氨酸　(e)天冬酰胺
5. *O*－联多糖附着到(　)。　(a)丝氨酸　(b)甘氨酸　(c)色氨酸　(d)半胱氨酸　(e)天冬酰胺
6. 下列(　)*N*－联糖没加到内质网中。　(a)*N*－乙酰葡糖胺　(b)甘露糖　(c)葡萄糖　(d)唾液酸　(e)所有这些糖都被加到 ER 中
7. HIV 是(　)进入寄主细胞的。　(a)内吞作用　(b)外吞作用　(c)膜融合　(d)注入其 RNA　(e)以上均不是
8. 病毒包膜上的(　)成分使人免疫缺陷病毒(HIV)附着到寄主细胞上。　(a)gp41　(b)p18　(c)gp120　(d)p24　(e)p15
9. 多数裸动物病毒是通过(　)侵入寄主细胞中的。　(a)包壳作用　(b)外吞作用　(c)内吞作用　(d)脱壳　(e)质膜融合
10. 有包膜动物病毒侵入质膜时失去其包膜，它们是通过(　)进入细胞的。　(a)内吞作用　(b)膜融合　(c)包壳作用　(d)核内体融合　(e)质膜熔化
11. 反转录病毒具有的将其 RNA 染色体转变成 DNA 染色体酶的名称是(　)。　(a)依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶　(b)复制酶　(c)依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶　(d)反转录酶　(e)以上均不是
12. 反转录酶具有的在 DNA 合成后消化 RNA 模板的酶活性是(　)。　(a)Reverse discriminase　(b)脂肪酶 H　(c)蛋白酶 H　(d)RNA 酶 H　(e)DNA 酶 H

13. 反转录病毒的染色体种类是(　)。　(a)一个正 ssRNA　(b)一个负 ssRNA　(c)两个拷贝的正 ssRNA　(d)两个拷贝的负 ssRNA　(e)以上均不是
14. (　)病毒酶活性是反转录病毒的核心。　(a)反转录酶　(b)蛋白酶　(c)RNA 酶　(d)整合酶　(e)以上均不是
15. 下列(　)不是反转录病毒。　(a)致癌病毒　(b)慢病毒　(c)spumavirus　(d)rubivirus　(e)以上全是反转录病毒
16. HIV 的转录起始于(　)。　(a)*gag*　(b)*pol*　(c)*env*　(d)左端 *LTR*　(e)右端 *LTR*
17. (　)RNA 病毒具有致癌基因。　(a)乙型肝炎病毒　(b)非洲淋巴瘤病毒　(c)人乳头瘤病毒　(d)腺病毒　(e)劳斯肉瘤病毒
18. 信号转导通路中致癌基因 *myc*、*ras*、*erbB*、*sis* 产物的顺序是(　)。　(a)sis－erbB－ras－myc　(b)myc－erbB－sis－ras　(c)ras－sis－erbB－myc　(d)erbB－myc－sis－ras　(e)ras－sis－myc－erbB

是非题　正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 蛋白质的糖基化作用发生在内质网和高尔基复合体中。
2. 加在蛋白质上的糖类能结合到天冬酰胺的氮上或通过丝氨酸的氧。
3. 通过糖链上甘露糖的甲基化作用,蛋白质定向到溶酶体上。
4. 仅在有合适的信号序列和穿过内膜的电压时,蛋白质才能进入到线粒体的基质中。
5. 蛋白质从基质进入到线粒体的膜间隙中。
6. 病毒蛋白质产生前,病毒的负 RNA 染色体必须先合成互补的正 RNA 链。
7. 有二十面(甚至病毒似乎是球状的)衣壳的病毒可以是二十面体对称结构。
8. 圆柱形病毒据说有螺旋形对称结构。
9. 一般来说,病毒吸附由病毒上脂附着位点和寄主细胞上脂受体调节。
10. 病毒附着位点的突变可以改变病毒的寄主范围。
11. 单链正 RNA 病毒通常在转录前先进行翻译。
12. 单链负 RNA 病毒通常具有依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶来转录它们的染色体组。
13. 单链负 RNA 病毒通常在翻译前先进行转录。
14. 反转录病毒是单链正 RNA 病毒,它们的 DNA 聚合酶仅可使用 DNA 模板。
15. 反转录病毒将其染色体组转变成较短的 DNA。
16. 一般地说,双链 RNA 病毒具有的依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶是复制酶。
17. 当细胞被双链 RNA 病毒(反转录病毒)感染后,病毒转录早于翻译。
18. 反转录病毒的 gag 区表达一个以上多肽。
19. 人嗜 T 淋巴细胞病毒(HTLV-Ⅰ、Ⅱ)属于致癌病毒亚科。
20. 人嗜 T 淋巴细胞病毒(HTLV-Ⅰ、Ⅱ)有二十面体对称结构的衣壳,而人免疫缺陷病毒(HIV-1、2)的衣壳是螺旋形对称的弹形衣壳。
21. 反转录病毒的 RNA 染色体组和 DNA 原病毒的长度相同。
22. HIV 中的 RNA 染色体组在每个末端都有一个长末端重复序列。
23. 许多 DNA 病毒(HBV、EBV、HPV、SV40 等)携带致癌基因,但这些致癌基因和正常细胞的基因不相关。

匹配题　病毒(A 栏中 1～7)与其形状(B 栏中 A～E)配对。

A 栏	B 栏
1. 细小核糖核酸病毒(脊髓灰质炎病毒、甲型肝炎病毒、口蹄疫病毒)	A. 螺旋状
2. 乳多空病毒(乳头瘤病毒、SV40、多瘤病毒)	B. 二十面体的或全对称的

3. 弹状病毒(狂犬病毒)
4. 痘病毒(牛痘病毒)
5. 反转录病毒(人免疫缺陷病毒、人嗜淋巴细胞病毒)
6. 披膜病毒(东部和西部马脑炎病毒)
7. 正黏病毒(流感病毒)

C. 球形
D. 弹形
E. 复合体

HIV 区(B 栏中 A～E)和它们表达的蛋白(A 栏中 8～13)配对。

8. 核蛋白
9. 衣壳
10. 基质
11. 蛋白酶
12. 反转录酶/RNA 酶 H
13. 整合酶

A. *pol*
B. *env*
C. *pro*
D. *int*
E. *gag*

来自 RNA 病毒的致癌基因(B 栏中 A～E)和它们每个表达的蛋白质(A 栏中 14～18)配对。

14. 有酪氨酸激酶活性的受体
15. 核内的激活剂
16. 生长激素(血小板生长因子)
17. 单体 G 蛋白
18. 表皮生长因子受体

A. *sis*
B. *erbB*
C. *ras*
D. *myc*
E. *fos*

术语(B 栏中 A～E)和描述(A 栏中 19～22)配对。

19. 病毒的核酸和蛋白覆盖物
20. 有 20 面 12 个顶点的围绕病毒核酸的蛋白外壳
21. 许多动物病毒的膜覆盖物
22. 病毒外壳的亚单位

A. 壳粒
B. 衣壳
C. 核壳
D. 二十面体
E. 包膜

术语　除非特别指明，每个答案为一个词。

1. 当蛋白质被合成时，允许蛋白质进入内质网的氨基末端。(两个词)
2. 结合到新生肽氨基末端和 80S 核糖体上并使复合体附着到内质网的蛋白质名称。(三个词)
3. 将多糖加到天冬酰氨的膜脂名称。
4. 当蛋白质被 6 -磷酸甘露糖标记时，得到这些蛋白质的细胞器。
5. 使新生蛋白质在细胞质中变性以使它们能进入细胞器的蛋白质名称。
6. 用于描述一个病毒可以感染寄主多样性的术语。(两个词)
7. 用于描述病毒吸引到寄主中特定细胞类型的术语。(两个词)
8. gp120 中的"gp"表示什么?
9. 用于修饰可作为 mRNA 的病毒 RNA 基因组的形容词。(一或两个词)
10. 用于修饰病毒反向包膜的形容词。
11. 描述每个被感染细胞产生的病毒子代数的名称。(两个词)
12. 在单链 RNA 病毒中，特指核酸模板和新生染色体链的术语。(两个词)
13. 反转录病毒的 DNA 合成最初从 RNA 模板开始。从 RNA 模板合成新 DNA 酶名称是什么?(两个词)
14. 携带的癌基因类似于动物细胞基因的病毒亚科。
15. 人免疫缺陷病毒(HIV)属于什么亚科?
16. HIV 用来附着到寄主细胞的膜蛋白。
17. 含 HIV 转录起始子的区。(二个词)

答　案

选择题

1. b **2.** a **3.** b **4.** e **5.** a **6.** d **7.** c **8.** c **9.** c **10.** b **11.** d **12.** d **13.** c **14.** e **15.** d **16.** d **17.** e **18.** a

是非题

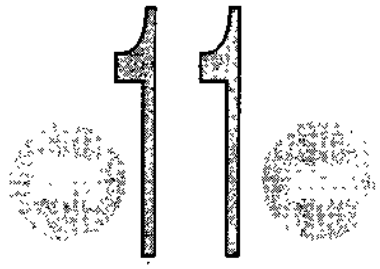
1. T **2.** T **3.** F(通过甘露糖的磷酸化作用) **4.** T **5.** T **6.** T **7.** T **8.** T **9.** F(通过蛋白附着位点/蛋白受体) **10.** T **11.** T **12.** T **13.** T **14.** F(或以 RNA 或以 DNA 作为模板) **15.** F(比 RNA 染色体组长) **16.** T **17.** T **18.** T **19.** T **20.** T **21.** F(RNA 染色体组[*R* - *U5* - *PB* - *gag* - *pol* - *env* - *U3* - *R*]比原病毒的[*U3* - *R* - *U5* - *PB* - *gag* - *pol* - *env* - *U3* - *R* - *U5*]更短) **22.** F(仅新生 DNA 或 RNA 病毒有 LTR) **23.** T

匹配题

1. B **2.** B **3.** D **4.** E **5.** C **6.** C **7.** C **8.** E **9.** E **10.** E **11.** C **12.** A **13.** D **14.** B **15.** D **16.** A **17.** C **18.** B **19.** C **20.** D **21.** E **22.** A

术语

1. 信号序列 **2.** 信号识别颗粒 **3.** 多萜醇 **4.** 溶酶体 **5.** 唇基 **6.** 寄主范围 **7.** 细胞向性 **8.** 糖蛋白 **9.** 正 RNA **10.** 裸的 **11.** 裂解量 **12.** 复制中间体 **13.** 反转录酶 **14.** 致癌病毒科 **15.** 慢病毒科 **16.** gp120 **17.** 长末端重复序列



细胞通讯

导　言

细胞不断从周围环境中获取信息，然后以它们的基因和外遗传因子决定的方式进行应答。**外遗传因子**(epigenetic factor)是改变基因表达方式的化学或物理试剂。例如，激活或抑制基因表达的糖可被认为是外遗传因子。细胞能够对周围许多不同的化学或物理试剂作出应答。这些试剂在本章中将被称为**信号**(signal)。化学试剂可简单到离子也可复杂到肽或类固醇激素。物理信号一般受制于能流、热和电磁辐射(光)。

生长、繁殖、分化、运动和凋亡似乎是很不同的现象。然而这些活动的每一个都依赖于信号，这些信号通常通过对基因的激活和抑制来改变细胞生理。对外部信号有反应的信号通路由蛋白质和一些非蛋白"第二信使"[如钙离子(Ca^{2+})、环腺苷酸(cAMP)，环鸟苷酸(cGMP)、二酰甘油(DG)和肌醇三磷酸(IP_3)]组成。

信号可以引起细胞暂时或永久的变化。例如，环境中的氨基酸可以关闭涉及其合成的基因。然而，这些变化是暂时的，因为氨基酸的除去可以逆转有关基因的表达。在从单个受精卵发育成多细胞有机体的过程中，信号永久性地改变了许多细胞种群。这样就可允许不同组织和器官的发育。当分化细胞的基因因突变而发生变化时，细胞可以失去控制地生长并杀死寄主。这就是发生癌症的情况。

本章将涉及信号、信号通路和在真核细胞和细菌中的细胞应答。特别是，本章将探讨促使细胞经历细胞周期阶段 G_1(生长)、S(DNA 合成)、G_2(生长)、M(有丝分裂)和 C(胞质分裂见问题 11.29)的机制以及促使细胞分化和进入 G_0(生长停滞期)或 A[程序性细胞死亡(programmed cell death)即凋亡(apoptosis)]期的机制。本章还将探讨信号通路成分的突变是如何导致细胞转化和恶性肿瘤的。

一般原理

11.1　影响真核细胞生理的部分化学和物理的细胞外信号是什么?

多数细胞外信号可归为三类(表 11.1)：蛋白质和肽；非肽类神经递质(许多来自氨基酸)；类固醇或其他膜溶性分子如甲状腺素和视黄酸。

通过许多和化学信号相同的信号通路，电磁辐射(光)是一个影响植物和动物的非常重要的非化学信号。例如，眼视网膜中的视杆细胞和视锥细胞有光感受体**视紫红质**(rhodopsin)。这些光感受体和视杆细胞的细胞质膜和视锥细胞的质膜上的特殊蛋白质互相作用。这些特殊蛋白质则将信号转导至细胞的更深水平。同样，许多植物细胞有光感受体植物**光敏色素**(phytochrome)。这些受体也可刺激质膜上的特殊蛋白质去转导信号。本章中的"**转导**"(transduce)是"发送"(send)或"传送"(carry)的同义词。这样，信号通路将被称为**信号转导通路**(signal transduction pathway)。这些细胞中的通路将信号传送到细胞的不同部位，多数情况下是传给基因。

11.2　化学信号是如何和细胞及信号转导通路发生相互作用的?

通过特异性结合到蛋白受体上，所有信号分子和信号转导通路发生作用。因为肽和非肽

类神经递质不能穿过质膜，这些信号分子的受体位于细胞的外表面。而类固醇和其他膜溶性成分（例如甲状腺素和视黄素）由于其化学特性可通过质膜扩散。这些信号分子通过特异性结合到细胞质中的蛋白质受体即细胞质受体上和信号转导通路首先发生相互作用。

表 11.1 化学信号

Ⅰ. 蛋白质和肽	
EGF	表皮生长因子(epidermal growth factor)
PDGF	血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor)
FGF	成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor)
TNF	肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor)
TGF－α	转化生长因子α (transforming growth factor－α)
TGF－β	转化生长因子β (transforming growth factor β)
G－CSF	粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor)
GM－CSF	粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor)
M－CSF	单细胞集落刺激因子(monocyte colony stimulating factor)
IFN－α/β	α.β干扰素 (interferon)
IFN－γ	γ干扰素 (interferon)
IL	白细胞介素(1～12) (interleukin)
ERYP	促红细胞生成素(erythropoietin)
INS	胰岛素(insulin)
Ⅱ. 非肽类神经递质	
SER	5－羟色胺(serotonin)(来自色氨酸)
MEL	褪黑素(melatonin)(来自色氨酸)
DOP	多巴胺(dopamine)(来自酪氨酸)
NEPI	去甲肾上腺素(norepinephrin)(来自多巴胺)
EPI	肾上腺素(epinephrin)(来自去甲肾上腺素)
ACH	乙酰胆碱(acetylcholine)
GLU	谷氨酸(glutamic acid)
GABA	γ氨基丁酸(γ－aminobutyric acid)
Ⅲ. 类固醇和其他膜溶性分子	
EST	雌激素(estrogen)
TES	睾酮(testosterone)
TYX	甲状腺素(thyroxine)
RA	视黄酸(retinoic acid)

11.3 光信号是如何和细胞及信号转导通路发生相互作用的?

光信号被由发色体和转导蛋白质组成的受体吸收。因为**发色团**(chromophore)有无数串联排列的双键碳原子，它们吸收特殊波长的光并且或者发射其他波长的光。因为发色团吸收特殊波长的光，所以它们有颜色。它们的颜色由反射的光所决定。

例 11.1

*视紫红质是一个对光作出应答的受体。它由发色团**视网膜**(retinal)和**视蛋白**(opsin)组成。通过色视觉可发现视紫红质嵌入动物视网膜的视杆细胞和视锥细胞内。一组吸收光的细菌有稍微不同的受体称为细菌视紫红质。*

许多植物细胞具有光感受体即植物光敏色素。**植物光敏色素**由起发色团作用的线性四吡咯和蛋白质部分组成。蛋白质部分被认为将发色团固定在质膜的内表面上并使信号和一个或多个信号通路发生联系。

11.4　通过受体刺激信号通路时，配基是如何结合到受体上的或光是如何被吸收的？

当信号分子结合到受体上时，大多数嵌于质膜内的受体变成活性离子通道或活性蛋白激酶。

☞ **例 11.2**

在骨骼肌细胞中，乙酰胆碱受体不仅结合神经递质还结合钙离子。在有乙酰胆碱存在的情况下，受体形成输送钙离子穿过膜的通道。钙离子顺着浓度梯度进入肌肉细胞并使膜电位去极化。钙离子浓度的增加作为第二信使刺激骨骼肌和细胞的收缩。

许多受体是使自身磷酸化的酪氨酸激酶。在这种状态下，它们和刺激（或抑制）GTP-结合蛋白即 G 蛋白的蛋白质发生相互作用。

G　蛋　白

11.5　什么是 G 蛋白？它们在信号转导中的作用是什么？

G 蛋白（G protein）是信号转导通路中重要的中间体，因为它们决定着信号是刺激性的还是抑制性的。起刺激作用的被称为**兴奋剂**（agonist），而起抑制作用的被称为拮抗剂（antagonist）。一个特殊化学或物理信号在某些条件下可以是兴奋剂，在其他条件下又可以是拮抗剂。信号是刺激还是抑制细胞应答不是很依赖于此信号而是取决于受影响的通路。

☞ **例 11.3**

结合到受体（R）的信号（S）可以开放还是关闭离子通道（P）取决于受体和通道的相互的作用。一般来说，此相互作用取决于是刺激性的（G_s）还是抑制性的（G）G 蛋白。沿着通路 S-)R-)Gs--)P 的信号打开离子通道，而沿着通路 S-)R-)Gi-| P 的信号关闭离子通道。箭头（--)）表示刺激，钝箭头（-| ）表示抑制。

11.6　区分 G 蛋白的特征是什么？

G 蛋白的一大家族是**三联体**（trimeric），它由三个亚单位组成：α、β 和 γ。α 亚单位结合 GDP 和 GTP。当信号刺激受体时，改变了的受体促使 G 蛋白发生变化：GDP 从 α 亚单位上游离下来，GTP 则取代它的位置。此变化促使 α 亚单位的解离。α 亚单位沿着膜内表面扩散，直到它和酶或离子通道发生联系。取决于 α 亚单位的特点，酶可以是抑制性的或刺激性的，离子通道可以是关闭的或打开的。α 亚单位的抑制性或刺激性活性，因为结合的 GTP 的自发水解以及 α 亚单位重新和 β、γ 亚单位重新发生联系而被阻断。

许多 G 蛋白基于特定细菌毒素对它们的修饰而被区分（表 11.2 脚注）。这些细菌毒素将 ADP-核糖从烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD^+）加到 G 蛋白上。此反应被称为 ADP-核糖基化。某些情况下，ADP-核糖基化激活 G 蛋白，而在其他情况下，它使 G 蛋白失活。

G 蛋白的另一家族由单个亚单位组成。这些**单体**（monomeric）蛋白也被称为 **Ras 蛋白**（Ras protein，Ras）。通过膜结合酪氨酸激酶的自身磷酸化作用及调节蛋白与磷酸的相互作用，Ras 蛋白被间接激活。活性和失活的 Ras 的相对数量由鸟嘌呤核苷酸释放因子（Gnrfs）和 GTP 酶活化蛋白（Gaps）决定（图 11-1）。由于这些蛋白质促使 GTP 向 GDP 或 GDP 向 GTP 变换，它们分别影响 Ras 蛋白活性。一些 Ras 蛋白被**肿瘤抑制基因产物**（tumor suppressor gene product）如人类神经纤维瘤类型-1 蛋白（NF-1）反向调节。NF-1 基因产物刺激 Ras

蛋白 GTP 酶活性。GTP 水解成 GDP 和 Pi 并抑制 Ras 蛋白。

表 11.2　由 G 蛋白调节的生理效果

信号	G 蛋白*	靶蛋白	受影响细胞类型	细胞结果
肾上腺素	$G_s(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	肝	糖原水解
肾上腺素	$G_i(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	表皮	无糖原水解
胰高血糖素	$G_s(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	肝	糖原水解
肾上腺素	$G_s(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	脂肪	脂肪水解
胰高血糖素	$G_s(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	脂肪	脂肪水解
乙酰胆碱	$G_i(\beta,\gamma)$	钾通道	心肌	低心率和收缩力
促黄体素	$G_s(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	卵泡	合成雌激素和孕酮
抗利尿素	$G_s(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	肾小管	水的吸收
脑啡肽，内啡肽	$G_{olp}(\beta,\gamma)$	离子通道(Na、K、Ca)	脑神经元	神经元活性
血管紧张素	$G_{sp}(\beta,\gamma)$	磷脂酶 C	平滑肌	肌肉收缩和压力增加
增味剂	$G_{olf}(\beta,\gamma)$	腺苷酸环化酶	鼻神经元	增味剂的检测
光	$G_{et}(\beta,\gamma)$	依赖于 cGMP 的磷酸二脂酶	视杆细胞和视锥细胞	光的检测
FGF***	Ras (Gap、Gnrf)**	磷脂酶 C	成纤维细胞	增殖
EGF***	Ras (Gap、Gnrf)**	腺苷酸环化酶	表皮	增殖

* 一些 G 蛋白通过化学修饰它们的细菌酶被区分。G_s 被霍乱毒素修饰，而 G_i、G_o 和 G_{sp} 被百日咳菌外毒素修饰。G_{et} 能被霍乱毒素和百日咳菌外毒素修饰。

** Gap 即 GTP 酶活化蛋白，Gnrf 即鸟嘌呤核苷酸释放因子。

*** FGF 即成纤维细胞生长因子，EGF 即表皮生长因子。

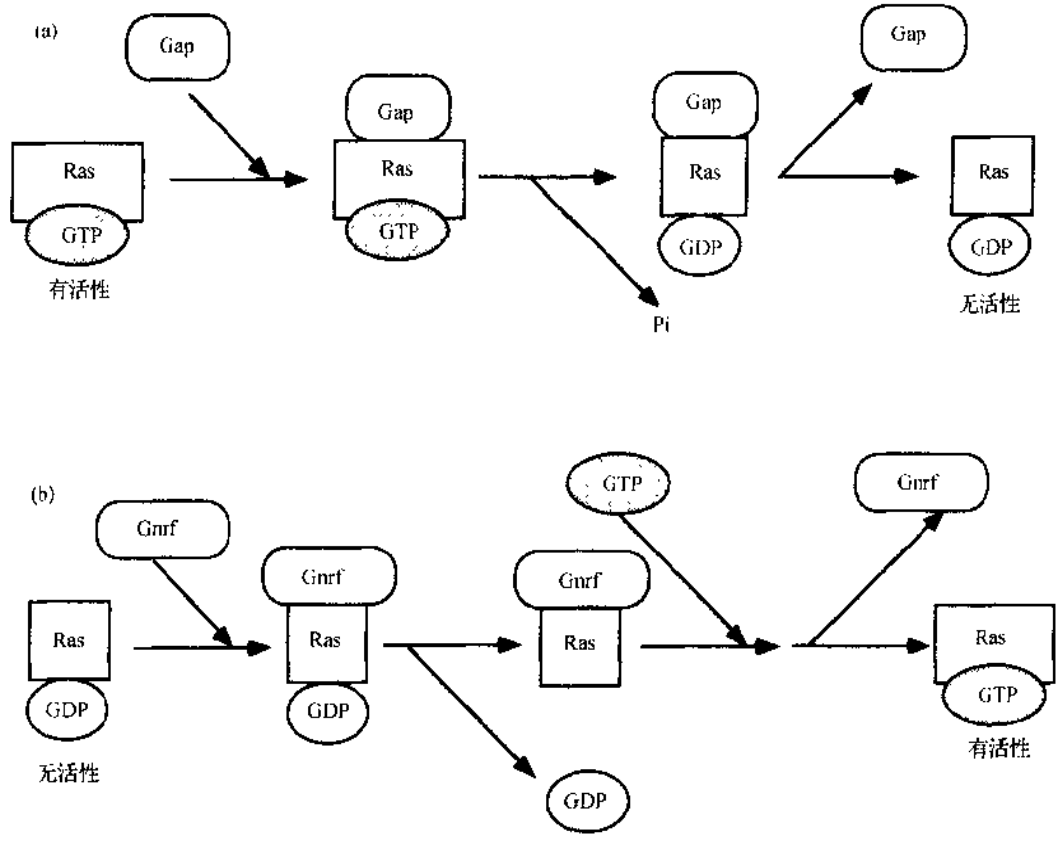


图 11-1　*ras* 基因产物的调节。*ras* 基因产物是单体 G 蛋白，当结合核苷酸 GTP 时有活性，但当结合 GDP 时失活。(a)通过 GTP 酶活化蛋白(Gap)结合到 G 蛋白上激活 GTP 酶活性。GTP 水解成 GDP 和 Pi 使 G 蛋白失活并抑制依赖于 G 蛋白的信号转导通路。GTP 水解后，Gap 从 Ras 上解离下来。(b)失活的 Ras-GDP 复合体能通过鸟嘌呤核苷酸释放因子(Gnrf)的结合被激活，Gnrf 促使 GDP 的解离并使 GTP 结合到 Ras 上。有赖于 GTP 结合到 Ras 上而使 Gnrf 解离。

例 11.4

肿瘤抑制基因 *NF-1* 表达 Ras 抑制蛋白且是 Gap(GTP 酶活化蛋白)的例子。涉及 Ras 的信号转导通路是:PDGF-->R-->Ras-->Raf-->Mek-->Erk-->Rsk。此通路被 NF-1 调节:NF-1--| Ras。箭头(-->)表示刺激,钝箭头(-|)表示抑制,而==>的意思是"产生"或"合成"。PDGF=血小板衍生生长因子;R=酪氨酸激酶受体;Ras=单体 G 蛋白;Raf、Mek、Erk、Rsk=蛋白激酶级联。

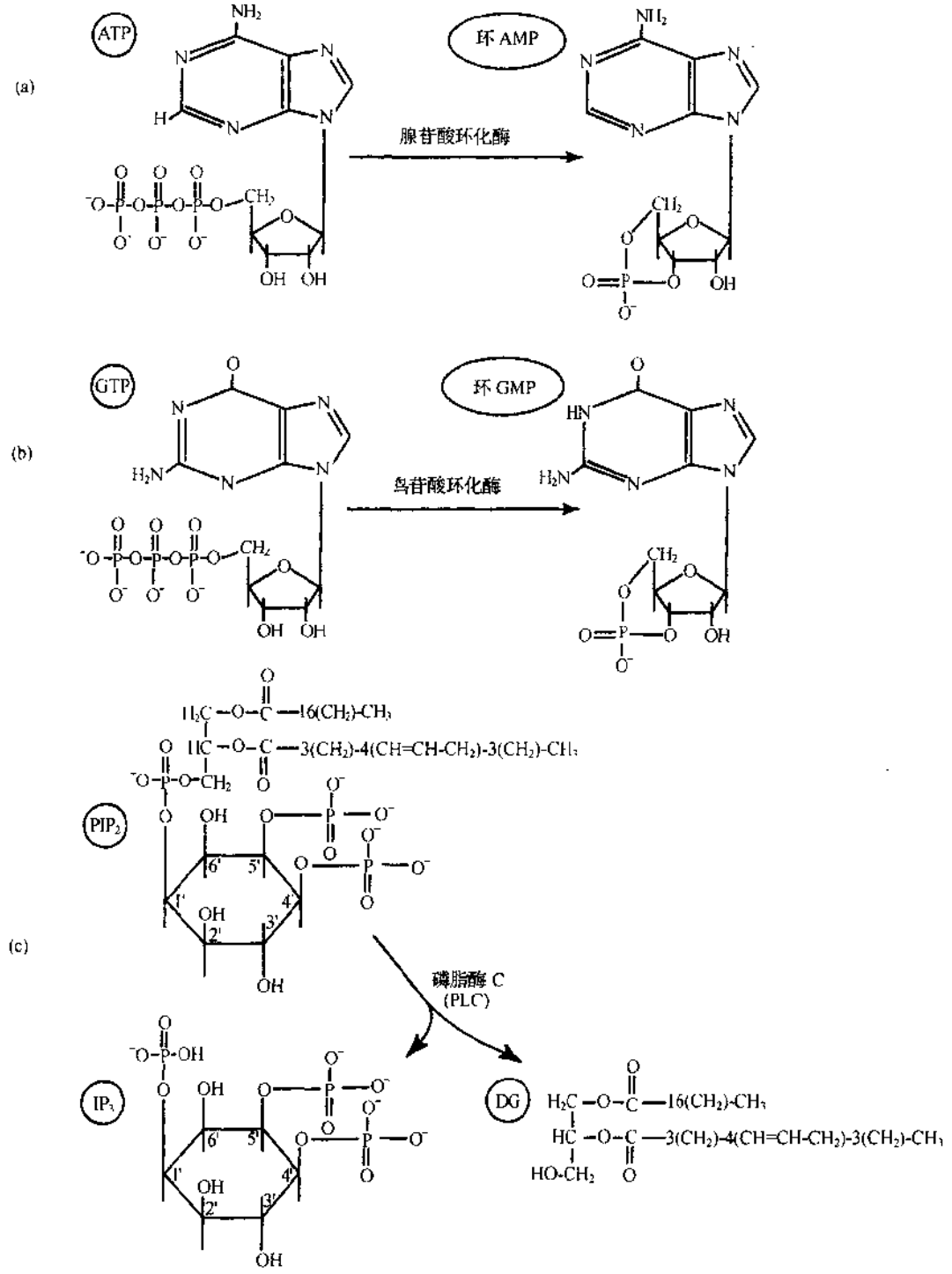


图 11-2　一些第二信使的化学结构。(a)通过膜结合腺苷酸环化酶从三磷酸腺苷(ATP)合成环腺苷酸(cAMP);(b)通过鸟苷酸环化酶从鸟苷三磷酸(GTP)合成环鸟苷酸(cGMP);(c)二酰甘油(DG)和肌醇 1′,4′,5′-三磷酸(IP_3)是通过磷脂酶-C(PLC)从膜脂磷脂酰肌醇 4′,5′-二磷酸(PIP_2)合成的。

不是所有单体 Ras 蛋白的信号转导通路下游都是已知的。不过，Ras 蛋白一般刺激一个蛋白激酶级联，而三联体 G 蛋白通常抑制或刺激酶如腺苷酸环化酶。

11.7 三联体 G 蛋白影响什么样的蛋白和酶?

三联体 G 蛋白影响离子通道和酶例如腺苷酸环化酶、鸟苷酸环化酶和磷酸脂酶(表 11.2)。这些酶通过催化产生**第二信使**如环腺苷酸(cAMP)、环鸟苷酸(cGMP)、肌醇三磷酸(IP_3)和二酰甘油(DG)扩大微弱信号，所以它们在信号通路中是重要的。

腺苷酸环化酶(adenylcyclase)和**鸟苷酸环化酶**(guanylcyclase)受 G 蛋白影响。这两个酶分别从 ATP 和 GTP 合成 cAMP 和 cGMP(图 11-2)。磷脂酶如磷脂酶 C(PLC)和磷脂酶 A(PLA)受 G 蛋白影响。这些酶催化肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)和二酰甘油(DG)。膜结合酶使磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PIP_2)水解成肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)和二酰甘油(DG)(图 11-2c 和 11-3)[①]。

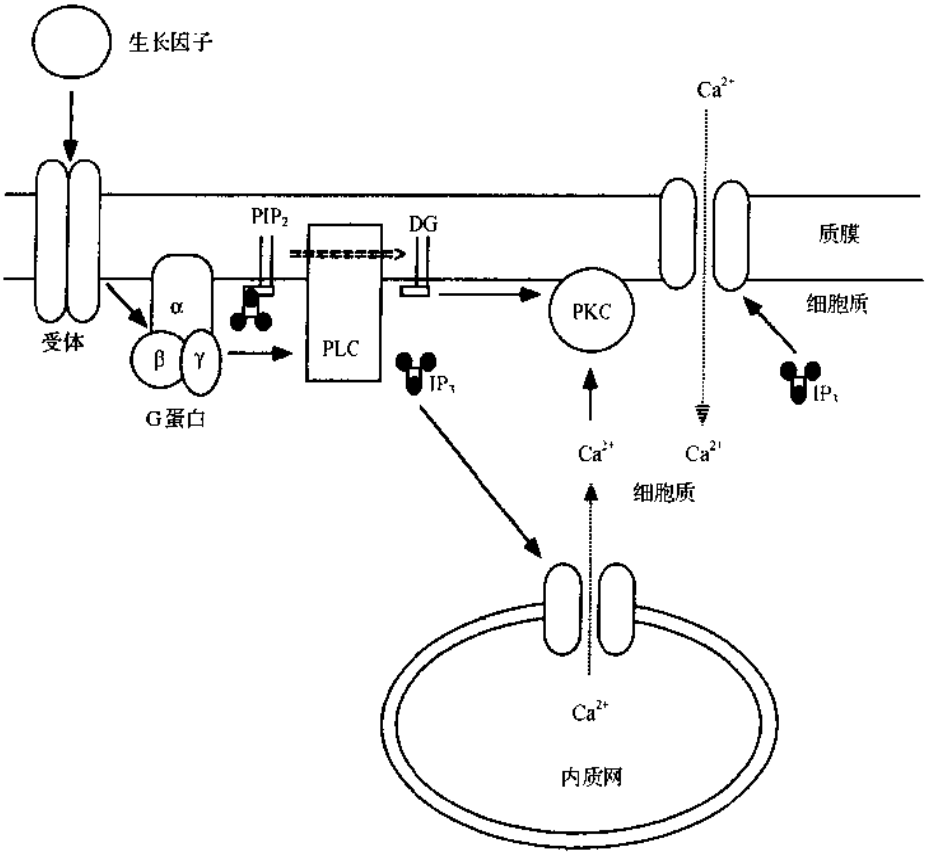


图 11-3 涉及 IP_3 和 DG 的信号转导通路。结合到细胞膜受体的生长因子或激素改变受体的构象。此变化促使附着在 G 蛋白 α 亚单位上的一个邻近的三联体 G 蛋白和 GDP(没有显示)的解离。通过 α 亚单位从 G 蛋白的 β 和 γ 亚单位上解离下来并通过 GTP 分子转变成 GDP(没有显示)使信号转导通路中的 α 亚单位激活。有活性 G 蛋白激活膜结合型磷脂酶 C(PLC)，磷脂酶 C 水解膜上磷脂酰肌醇-4′,5′-二磷酸(PIP_2)成二酰甘油(DG)和肌醇-1′,4′,5′-三磷酸(IP_3)。IP_3 和钙离子通道的结合使内质网(ER)和质膜上的离子通道开放并允许钙离子沿浓度梯度从 ER 和细胞外环境中运动到细胞质中。钙离子以及 DG 和失活的蛋白激酶 C(PKC)的结合使 PKC 变得有活性。激活的 PKC 使信号转导通路中的其他蛋白激酶磷酸化，通常激活它们(没有显示)。

PIP_2 从真核生物质膜内的常见脂即磷脂酰肌醇合成。少量此磷脂被一个膜激酶转变成磷脂酰肌醇 4-磷酸(PIP)。类似的，PIP 被另一个激酶转变成磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸

① 正文中关于磷酸位置的描述使用"1,4,5"，图中描述为"1′,4′,5′"，原书即如此。——译者注

(PIP_2)。

蛋白激酶与蛋白磷酸酶

11.8 什么是蛋白激酶？它们是如何分类的？

蛋白激酶之所以如此命名是因为它们使其他蛋白(而不是非蛋白分子如糖和脂)磷酸化。

☞ **例 11.5**

使磷脂酰肌醇变成 PIP_2 的激酶不是蛋白激酶。

一些蛋白激酶在信号转导通路开始通过特殊因子激活，而其他的沿着信号通路通过结合第二信使或磷酸化作用被激活。尽管一些蛋白激酶是膜结合型的，但绝大多数在细胞质中游离并在信号转导通路中起作用。

蛋白激酶通过哪个氨基酸被磷酸化(如酪氨酸激酶和丝氨酸-苏氨酸激酶)以及使它们具有活性所需的因子(如依赖于 cAMP 的激酶、依赖于 cGMP 的激酶、依赖于二酰甘油的激酶、依赖于钙的激酶、依赖于钙调蛋白-钙的激酶和依赖于细胞周期蛋白的激酶)进行分类。膜酪氨酸激酶(PKTyro)和丝氨酸-苏氨酸激酶(PKST)通常直接被化学信号激活。

蛋白激酶 A(PKA)和蛋白激酶 G(PKG)是可溶性丝氨酸-苏氨酸激酶，分别通过核苷酸和第二信使 cAMP 和 cGMP 激活。

蛋白激酶 C(PKC)用于标记一大类丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶，这些蛋白激酶直接通过第二信使二酰甘油(DG)和/或 Ca^{2+} 激活(图 11-3)。某些情况下，激活这些激酶需要所有这些第二信使的结合。

需要钙离子结合蛋白即钙**调蛋白**(calmodulin)和 Ca^{2+} 才有活性的蛋白激酶是依赖于钙调蛋白-钙的蛋白激酶(PKCC)。通过 IP_3 结合到通道上使质膜和内质网中的 Ca^{2-} 通道打开。

多数蛋白激酶是多联体蛋白，它们由分开的催化和调节亚单位组成。然而，一些蛋白激酶仅有一个具有催化区域和一个或多个调节区域的多肽组成。调节区域可以结合配体如 cAMP、cGMP 和二酰甘油或可以是进行磷酸化的部位。

☞ **例 11.6**

通过二酰甘油结合激活的 PKC 由只有一个催化位点的多肽组成。

另一方面，被二酰甘油和 Ca^{2+} 激活的 PKCC 受钙调蛋白-Ca^{2+} 复合体影响，钙调蛋白-Ca^{2+} 复合体的作用类似调节亚单位。

细胞周期过程所需的蛋白激酶依赖于许多称为**细胞周期蛋白**(cyclin)的蛋白刺激因子。

11.9 激活 PKA 的信号转导通路是什么？

在控制糖原代谢为 1-磷酸葡萄糖的信号通路中，最有特色的蛋白激酶之一就是 PKA(PKAg)(图 11-4a)。此信号通路包括肾上腺素(EPI)及其受体(R)，刺激性 G 蛋白(G_s)、腺苷酸环化酶(Adc)、第二信使(cAMP)、依赖于 cAMP 的蛋白激酶(PKAg)、糖原磷酸化激酶(PKgpk)和糖原磷酸化酶(GP)。

通过 PKAg 的糖原磷酸化激酶(PKgpk)的磷酸化作用使酶从失活形式转变成有活性的结构。同样，通过 PKgpk 的糖原磷酸化酶的磷酸化作用使 GP 从无活性形式转变成有活性形式。此通路说明信号通路可以有一系列激酶顺序排列，且激酶通过结合核苷酸且/或者通过磷酸化作用被激活。注意 PKgpk 是蛋白激酶但 GP 不是，因为当 GP 从糖原上脱落下来时 GP

磷酸化葡萄糖亚单位。

PKAg 还抑制涉及糖原合成的两个酶：糖原合成酶和磷蛋白磷酸酶(图 11－4b)。糖原合成酶(GlcSyn)催化 UDP－葡萄糖(图 2－3)聚合成糖原。此酶通过磷酸化作用被 PKAg 直接抑制。另一方面，磷蛋白磷酸酶(PPPP)通过另一个可变成 PPPP 抑制因子的蛋白的磷酸化作用被 PKAg 间接抑制。

(a)肾上腺素促进糖原代谢

EPI --> R --> Gs --> Adc => cAMP --> PKAg --> PKgpk --> GP --> glycogen ==> G1P

(b)蛋白激酶 A 抑制糖原合成酶，但激活 PPPP 的抑制因子

PKAg --| GlcSyn

PKAg --> I --| PPPP

(c)没有肾上腺素，磷蛋白磷酸酶促进糖原合成

PPPP ----| PKgpk

PPPP ----| GP

PPPP ----> GlcSyn

GlcSyn + UDP - glucose ==> Glycogen+UDP

(d)乙酰胆碱促进糖原合成

AC --> R --> Gsp --> P ==> Ca^{2+}

Ca^{2+} + PKgpk --> GP ==> G1P ==>glycogen

图 11－4 影响糖原合成和水解的信号转导通路。EPI：肾上腺素；R：受体；Gs：三联体 G 蛋白；Adc：腺苷酸环化酶；cAMP：环腺苷酸；PKAg：蛋白激酶 A，涉及糖原降解。PKgpk：糖原蛋白激酶；GP：糖原磷酸化酶；G1P：1－磷酸葡萄糖；GlcSyn：糖原合成酶；I：抑制蛋白；PPPP：磷蛋白磷酸酶；UDP－葡萄糖：尿苷二磷酸葡萄糖(激活的糖原合成的前体)；AC：乙酰胆碱；Gsp：激活质膜钙通道的三联体 G 蛋白；P：钙通道。通过 UDP－葡萄糖焦磷酸化酶从尿苷三磷酸和 1－磷酸葡萄糖合成 UDP－葡萄糖。箭头有以下含义：-->激活，==>产生，----|抑制。

PPPP 通过从 PKgpk 和 GP 上去掉磷酸基抑制糖原代谢。PPPP 还去掉糖原合成酶的磷酸基，从而激活糖原合成酶并促进糖原合成。

肾上腺素刺激的生理结果就是 1－磷酸葡萄糖从糖原中释放。肾上腺素缺乏时，PPPP 自动去磷酸化并成为有活性酶，从而使 PKgpk、GP 和糖原合成酶去磷酸化(图 11－4c)。此作用促使 UDP－葡萄糖合成糖原。UDP“激活”葡萄糖使它能被聚合。

PKAg 是一个复杂的酶。缺乏 cAMP 时，PKAg 由两个催化亚单位和两个调节亚单位组成。调节亚单位抑制催化亚单位的活性。当 cAMP 结合到两个调节亚单位上时，它们经历构象变化并从催化亚单位上解离下来，游离的催化亚单位起活性激酶的作用。

在某些细胞内，乙酰胆碱也促进糖原代谢，但通过稍微不同的信号转导通路(图 11－4d)。注意在此通路中，PKgpk 是通过钙离子而不是通过磷酸化作用被激活。另外，此通路涉及不同的调节区域。

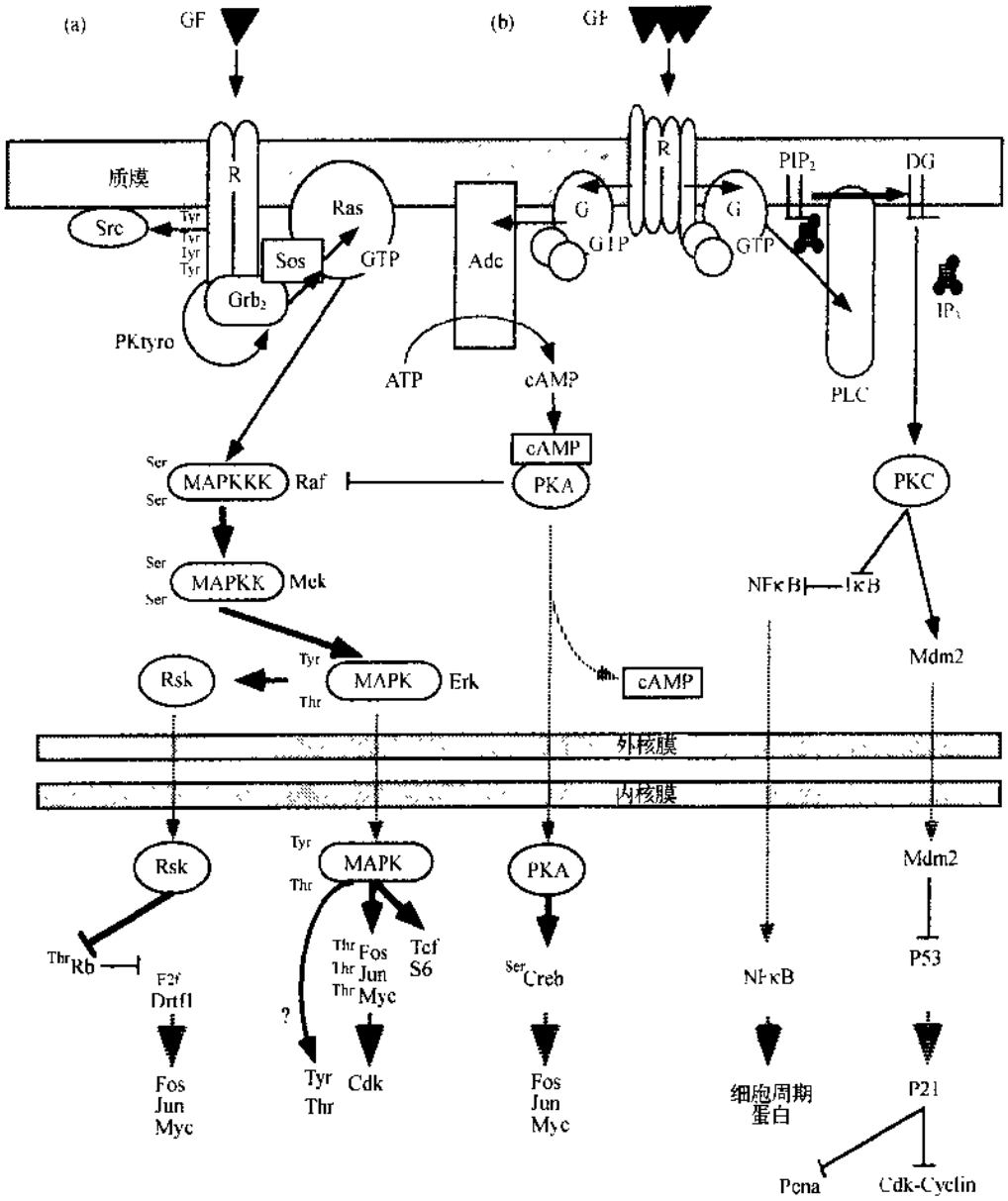


图 11－5　信号转导通路。→：通过物理相互作用引起的刺激；→：效应子或蛋白质的运动；→：磷酸化作用引起的刺激；→：蛋白质的合成。(a)某些生长因子与其受体的结合激活受体的酪氨酸激酶活性，以便于它们在酪氨酸上自磷酸化。活性受体通过两个其他蛋白质 Grb2 和 Sos 刺激 Src 和或者一个单体 G 蛋白(Ras)。Grb2 是一个生长因子受体结合蛋白，而 Sos 是鸟嘌呤核苷酸交换因子。Ras 激活激酶级联包括 MAPKKK(丝氨酸-苏氨酸激酶)、MAPKK(酪氨酸-苏氨酸激酶)和 MAPK(丝氨酸-苏氨酸激酶)。MAPKKK 自磷酸化，而 MAPKK 和 MAPK(和 Rsk)是通过其他激酶磷酸化。图中显示了每个蛋白质中磷酸化的氨基酸。在核中，MAPK 通过磷酸化许多蛋白质例如激酶 Rsk 和转录激活因子 Fos、Jun 和 Myc 而激活。肿瘤抑制基因产物成视网膜细胞瘤通过磷酸化无数苏氨酸而被抑制。磷酸化作用使 Rb 和转录因子 E2f 及 Drtf1 的复合体分解。E2f 和 Drtf1 对于 DNA 复制的起始，一些转录激活因子(Fos、Jun、Myc)，转录因子(Tcf)和 S6 激酶的转录是必需的。这些转录激活因子导致 Cdk 的合成；(b)某些生长因子(Rb)与其受体(R)的结合刺激三联体 G 蛋白。这些蛋白质激活某些酶如腺苷酸环化酶(Adc)和磷脂酶－C(PLC)，而这些酶催化第二信使如环腺苷酸(cAMP)、二酰甘油(DG)和肌醇三磷酸(IP_3)的合成。cAMP 通过结合并除去抑制性调节亚单位激活 PKA，而 DG 在细胞质中结合并激活 PKC。一些形式的 PKC 通过 Ca^{2+} 结合被激活。通过肌醇三磷酸(IP_3)，Ca^{2+} 从内质网释放。PKC 使转录因子 NFκB 游离于抑制蛋白 IκB。在核内，PKA 激活促进转录激活因子合成的转录激活因子 Creb，而 NFκB 促进细胞周期蛋白的合成。在核内，一个肿瘤抑制蛋白(P53)刺激蛋白质 Cip1(P21)的转录。P21 抑制两个蛋白质：增殖细胞核抗原(Pcna)，与细胞周期蛋白结合(Cdk-cyclin)的依赖于细胞周期蛋白的激酶。Pcna 对于通过聚合酶 δ 的 DNA 合成和通过聚合酶 δ 或 ε 的 DNA 修复是必需的。Cdk-cyclin 是细胞周期进展所需的。P53 被原癌基因产物 Mdm2 抑制。

11.10 什么蛋白激酶对于控制细胞周期是重要的?

多数细胞质中的可溶性蛋白激酶是丝氨酸-苏氨酸激酶。细胞质蛋白激酶的一个重要家族涉及激活细胞周期。这些蛋白激酶被称为**促分裂原活化蛋白激酶**(mitogen-activated protein kinase,MAPK)。

图 11-5a 显示了结合到受体上的某些生长因子如血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、神经生长因子(NGF)和转化生长因子(TGF)激活膜上靠细胞质一面的酪氨酸激酶(PKtyro)活性。在这个例子中,受体在酪氨酸残基上使自身磷酸化。受体也可以激活使不同细胞骨架蛋白磷酸化的另一个酪氨酸激酶(Src;附着到质膜)。细胞骨架蛋白的磷酸化可以导致细胞形状的改变,脱离其他细胞或运动。受体也可通过中间蛋白 Grb2 和 Sos 刺激 Ras。Ras 激活促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶(MAPKKK)使自身磷酸化。此酶通过磷酸化作用刺激促分裂原活化蛋白激酶激酶(MAPKK),而 MAPKK 通过磷酸化作用刺激促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)。MAPK 激活进入核内的蛋白激酶 Rsk,在那儿 Rsk 通过磷酸化作用使肿瘤抑制蛋白成视网膜细胞瘤(retinoblastoma,Rb)失活。失活的 Rb 释放转录因子 E2f 和 Drtf1,E2f 和 Drtf1 是转录激活因子 Fos、Jun 和 Myc 转录所需要的。当 DNA 在起始位点开始复制时,E2f 还是合成 RNA 引物所需要的。

通过磷酸化作用,MAPK 刺激转录激活因子例如 Jun、Fos、Myc 和 Cdk(发展进入到不同细胞周期阶段所需要的蛋白质)。**依赖子细胞周期蛋白的激酶**(cyclin-dependent protein kinase,cdk)及其细胞周期蛋白也被称为有丝分裂促进因子(MPF)。

某些生长因子例如肾上腺素(EPI)和去甲肾上腺素(NEPI)结合到没有激酶活性的受体上(图 11-5b)。在此例中,受体刺激三联体 G 蛋白,而三联体 G 蛋白可以激活腺苷酸环化酶和磷酸脂酶 C。通过结合到并除去抑制亚单位,腺苷酸环化酶催化激活 PKA 的 cAMP 的合成。激活的 PKA 扩散进入核内,在那儿它能刺激转录激活因子例如 Creb。磷酸化的 Creb 促进转录激活因子 Fos、Jun 和 Myc 的合成。磷脂酶 C 催化刺激 PKC 的二酰甘油的合成。激活的 PKC 磷酸化转录激活因子 NFκB 的一个抑制因子。游离的 NFκB 扩散进入核内,在那儿它促进细胞周期蛋白的合成。由于信号刺激激酶级联(图 11-5a)而产生依赖于细胞周期蛋白的蛋白激酶(Cdk);由于信号刺激 PKC 而产生细胞周期蛋白(图 11-5b);Cdk 和细胞周期蛋白同时存在促进细胞周期。

通过磷酸化作用,PKC 还可以激活抑制肿瘤抑制蛋白 P53 的蛋白质 Mdm2。P53 是转录因子,它能促进抑制蛋白 P21 的转录。P21 抑制 Cdk-细胞周期蛋白复合体和 Pcna(增殖细胞核抗原),Pcna 是 DNA 聚合酶 δ 活性所必需的。

11.11 磷酸酶在信号通路中起的作用是什么?

因为蛋白激酶是多数信号通路的一部分,它们几乎控制了细胞生理的每一个方面。这样,细胞生理的控制受其蛋白磷酸化状态影响。如果激酶磷酸化且此作用影响一个反应,那么必然有酶逆转那个反应。**蛋白磷酸酶**(protein phosphatase)是从蛋白质移除磷酸基的酶。如此说来,磷酸酶是激酶的相应物。

某些磷酸酶被磷酸化作用激活。一旦激活,它们抵消激酶引起的变化,甚至使那些给予它们活性的酶去磷酸化和失活。另一族磷酸酶被钙调蛋白-Ca^{2+}复合体激活。还有其他磷酸酶的活性受抑制蛋白控制。

疾病和免疫中的信号转导

11.12 什么是细菌内毒素?

革兰氏阴性菌有一层含有称为**内毒素**(endotoxin)的脂多糖的外膜。当这些脂多糖引起巨噬细胞产生**肿瘤坏死因子**(tumor necrosis factor,TNF)时,它们间接引起炎症和系统性休

克(败血性休克)。这些脂多糖的一部分称为脂质 A,它们结合到巨噬细胞和淋巴细胞的特殊受体上,从而产生和释放 TNF。

11.13　什么是肿瘤坏死因子?

血液感染引起称为肿瘤坏死因子(TNF-α 和 TNF-β)的至少两种蛋白质的合成和释放。肿瘤坏死因子引起许多细胞类型自杀,特别是对于组成血管的内皮细胞。细胞死亡引起称为**败血性休克**(septic shock)的循环衰竭。

11.14　哪个是被产生 TNF 的细菌内毒素刺激的信号转导通路?

许多实验显示有两个信号转导通路引起肿瘤坏死因子(TNF)的合成。一个通路涉及二酰甘油(DG)的合成。第二个通路绕过 PLC(磷脂酶 C)和 PKC(蛋白激酶 C)。受 G 蛋白刺激腺苷酸环化酶(Adc),Adc 引起 PKA 的激活(蛋白激酶 A)。PKA 通过磷酸化 IκB(κB 的抑制物)释放 NFκB(转录激活核因子- κB)。转录因子促进 TNF mRNA 的合成。mRNA 的翻译产生 TNF。这两个通路总结如下:R 代表受体,G 代表 G 蛋白,==>=产生,-->=刺激,--|=抑制。

脂质 A --> R --> G --> PLC ==> DG --> PKC --| IκB ==> NFκB ==> $mRNA_{TNF}$ ==> TNF

脂质 A --> R --> G --> Adc ==> cAMP --> PKA --| IκB ==> NFκB ==> $mRNA_{TNF}$ ==> TNF

11.15　哪种细胞变化是 TNF-α 和 TNF-β 引起的?

两个同样的糖基化蛋白质 TNF-α[**恶液质素**(cachectin)]和 TNF-β[**淋巴毒素**(lymphotoxin)]属于同族蛋白质。人类 TNF-α 有 157 个氨基酸长,而 TNF-β 由 171 个残基组成。TNF-α 主要由单核细胞和巨噬细胞合成。TNF-β 主要由淋巴细胞产生。TNF-α 和 TNF-β 可以结合到相同的受体上,但具有不同的亲合性。在许多不同细胞类型中至少有两种 TNF 受体已被识别。

慢性感染中低水平的 TNF-α 是长期疾病伴随的极度体重减少的原因之一。TNF-α 是在革兰氏阴性菌引起的血液感染后的败血性休克的发展中的主要蛋白质。TNF-α 和 TNF-β 都可以引起靶细胞的**凋亡**(apoptosis)(图 11-6)。内皮细胞的凋亡引起血管萎陷和败血性休克。同样,肿瘤细胞的凋亡可以解释 TNF-α 和 TNF-β 如何杀死肿瘤。凋亡不同于**细胞坏死**(necrosis)。细胞经历的凋亡是收缩而不是肿胀,染色质沿核膜集中而不是分散的,它们发育出大的细胞质液泡并且它们分成一个个微细胞而不是破裂。很明显,肿瘤坏死因子是错误命名,因为它们不引起细胞坏死而是凋亡。

凋亡是由许多成分组成的复杂事件。染色质降解为长度为 50～300 个千碱基对的核酸可归因于特殊限制性内切核酸酶的激活。核碎裂成微核可由半胱氨酸蛋白酶(在线虫纲是 Ced3,在脊椎动物是 ICE)的激活引起,半胱氨酸蛋白酶切开使核膜稳定的核**纤层蛋白**(lamin)(A、B、C)。某些基因突变引起"细胞死亡缺损",因此基因命名为 ced。ICE 指哺乳动物白细胞介素转变酶,一个和 Ced3 相关的蛋白酶。超氧化物岐化酶、过氧化物和过氧化氢酶的抑制可能是质膜损伤引起的细胞分裂的原因。哺乳动物 Bcl2 抑制凋亡:DNA 断裂、核碎裂、细胞碎裂及超氧化物和过氧化氢引起的损伤。

11.16　什么信号转导通路被 TNF 激活?

无数实验显示,TNF-α 结合到其受体上刺激对于膜磷脂酰胆碱(PTC)是特殊的磷脂酶- C(图 11-7)。产生的二酰甘油(DG)激活酸性鞘磷脂酶(ASMase),ASMase 催化膜鞘磷脂(SM)水解成神经酰胺和磷酸胆碱(PC)。通过依赖于神经酰胺的 PK,神经酰胺通过使核转录激活因子和抑制性亚单位(IκB)分开而使之激活。转录激活因子 NFκB(p50+p65)诱导许多

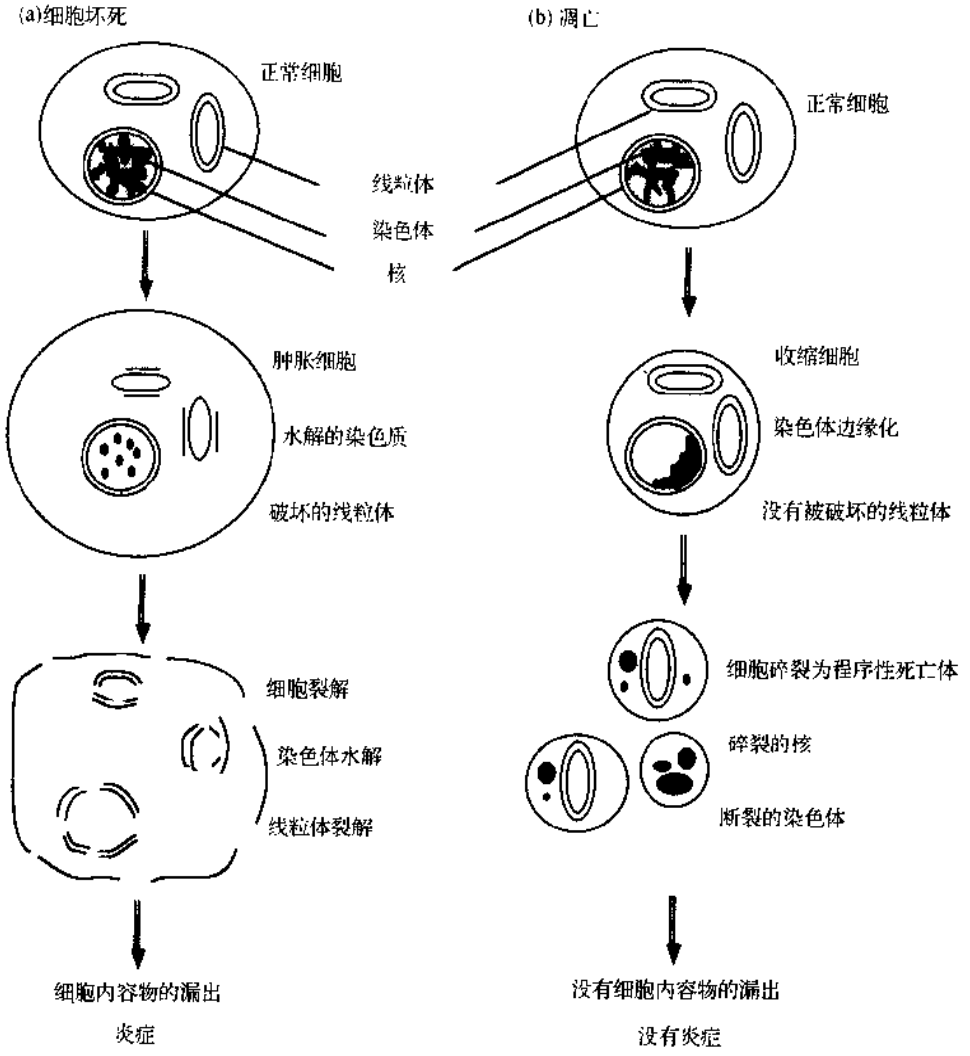


图 11－6　细胞坏死和凋亡的形态学变化。(a)一般说来，细胞坏死是由于养分缺乏或毒性成分引起的不可修复的损伤。细胞坏死伴随着细胞体积增加，细胞器碎裂，染色质水解，细胞裂解和细胞物质的释放。碎片被巨噬细胞吞噬，释放的细胞成分引起炎症。(b)凋亡是由于不能维持细胞的信号且或者起始凋亡的信号引起的程序性破坏。凋亡的特征是体积减少，线粒体稳定，染色质沿内核膜聚集，核碎裂，细胞碎裂为凋亡小体(有完整的线粒体且没有细胞物质的释放)和染色质水解。凋亡小体被巨噬细胞吞噬且只有极微的或没有炎症发生。

基因包括那些编码 TNF-α 和 TNF-β 的。一些基因产物可以导致脂肪代谢的增加，炎性因子的合成或凋亡。

按照一个模型，凋亡是生长因子和杀伤因子不平衡的结果：太少的上皮生长因子激活 Bcl2/Ced9 且或者太多 TNF-α 激活限制性内切酶，蛋白酶(ICE/Ced3)和酶抑制物(超氧化物歧化酶、过氧化物和过氧化氢酶)，从而引起细胞经历凋亡。图 11－8 说明了由 TNF-α 产生的神经酰胺刺激蛋白磷酸酶从许多细胞质激酶如 MAPKKK、MAPKK 和 MAPK 除去磷酸基的假设方案。此去磷酸化作用抑制激活转录激活因子所需的激酶，而转录激活因子又是阻止凋亡的蛋白质 Bcl2/Ced9 的产生所需的。刺激性生长因子如**上皮生长因子**(epidermal growth factor，EGF)激活细胞质激酶。激酶刺激合适的基因去特异表达凋亡的抑制物如 Bax－Bcl－2 复合体。Bax－Bcl－2 可以限制切 DNA 的核酸酶的产生或活性，或限制产生毒性化合物的酶的合成或活性。

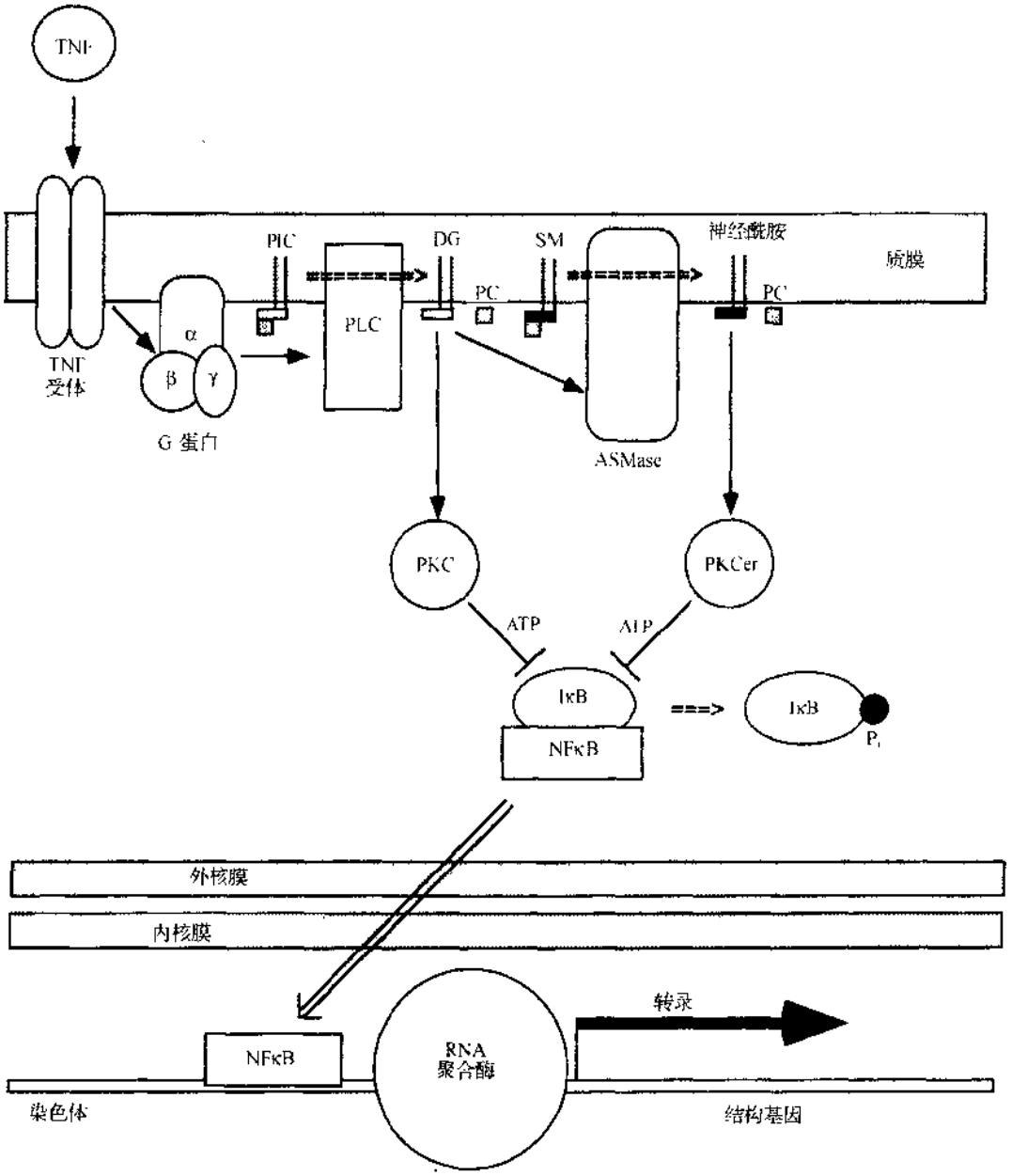


图 11－7　由肿瘤坏死因子刺激的信号转导通路。结合到受体的肿瘤坏死因子(TNF)激活三联体 G 蛋白去刺激质膜结合型磷脂酶 C(PLC)。此酶使磷脂酰胆碱(PTC，一种膜脂)水解为二酰甘油(DG)和磷酸胆碱(PC)。DG 作为第二信使激活两个酶：膜结合酸性鞘磷脂酶(ASMase)和可溶性蛋白激酶 C(PKC)。ASMase 使鞘磷脂(SM，一种膜脂)水解为神经酰胺和磷酸胆碱(PC)。神经酰胺激活依赖于神经酰胺的蛋白激酶(PKCer)，此酶磷酸化转录激活因子 NFκB 的抑制物(IκB)并引起抑制物游离。NFκB(由亚单位 P50 和 P65 组成；没有显示)激活影响细胞生理的各种基因的转录。

11.17　当病毒感染动物，受感染细胞经常通过产生许多防止感染的蛋白质进行应答。抑制病毒增殖的最重要的一族蛋白质就是干扰素，干扰素能防止受感染细胞的病毒繁殖和防止没有感染的细胞被感染。什么是干扰素？人类有多少干扰素？

干扰素(interferon，IFN)是信号蛋白质，它能引起抑制病毒复制的蛋白质的合成。干扰素是**细胞因子**(cytokine)的一种，它是一个主要涉及免疫系统细胞间通讯的低分子质量蛋白质。类型Ⅰ干扰素(α 干扰素、β 干扰素和 ω 干扰素)由不含内含子的基因编码，它们被几乎所有受病毒感染的细胞合成和分泌。另一方面，类型Ⅱ干扰素(γ 干扰素)由含内含子的基因编码，几

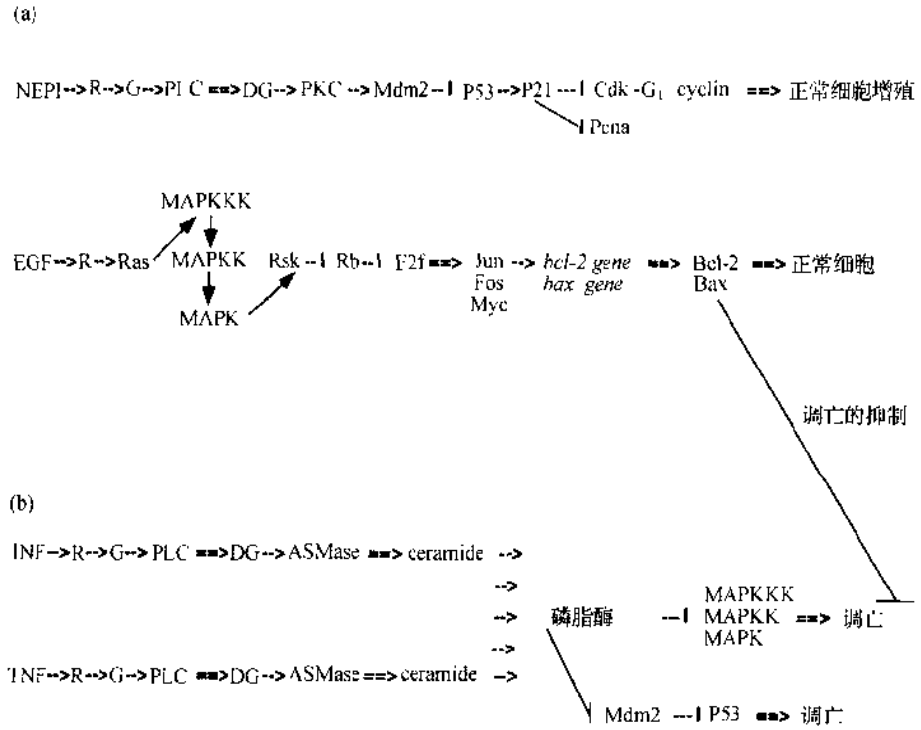


图 11-8 引起正常和凋亡细胞的信号转导通路。活着或死亡由信号强度决定，例如那些由去甲肾上腺素(NEPI)和上皮生长因子(EGF)引起的维持信号转导通路去抑制凋亡的信号以及那些刺激信号转导通路诱发凋亡的信号如 γ 干扰素和肿瘤坏死因子。(-->：刺激，==>：产生，--|：抑制)。(a)去甲肾上腺素(NEPI)结合到其细胞表面受体(R)启动一个信号。Mdm2 抑制 P53 以至于另一个抑制物 P21 不被合成。结果，依赖于细胞周期蛋白的激酶(Cdk-G1 cyclin)和增殖细胞核抗原(Pcna)没被抑制。P53(凋亡所需的)的抑制及活性 Cdk-G1 细胞周期蛋白和 Pcna 的存在促进细胞增值并抑制凋亡。结合到受体(R)上的上皮生长因子(EGF)启动另一个不同的信号。通过磷酸化作用使 Rb 抑制从而使促进转录激活因子(Fos、Jun、Myc)合成的转录因子(E2f)游离。这些转录激活因子促使 Bcl-2 和 Bax 的产生，而 Bcl-2 和 Bax 是维持正常可活细胞所必需的。因此，Bcl-2 和 Bax 抑制凋亡；(b)结合到受体(R)上的干扰素(INF)和肿瘤坏死因子(TNF)启动激活蛋白磷酸酶的信号。磷酸酶使不同蛋白质去磷酸化。通过磷酸酶使促有丝分裂蛋白激酶去磷酸化会阻止转录激活因子如 Fos、Jun 和 Myc 的激活，然后阻止 *Bcl-2* 基因的转录。Bcl-2 蛋白缺乏时，凋亡发生。通过磷酸酶使抑制蛋白 Mdm2 去磷酸化可产生活性 P53，活性 P53 促进凋亡。

乎只由抗原和有丝分裂原激起的淋巴细胞合成。人类至少有 18 个 INF-α 基因，其中 6 个是拟基因。**拟基因**(pseudogene)和活性基因密切相关，它们在启动子之前或它们含使它们失活的突变。共有 6 个 INF-ω 基因，其中 5 个是拟基因。只有一个 INF-β 和一个 INF-γ 基因。

11.18 病毒感染怎样引起干扰素的产生?

RNA 和 DNA 病毒都可以引起干扰素的合成。干扰素诱导需要双链 RNA。单链 RNA 病毒在复制其染色体的过程中成为双链。如果一些转录子获得第二结构，双链 RNA 也可在 DNA 病毒的转录过程中产生。任何情况下，双链 RNA 激活依赖于双链 RNA 的蛋白激酶(PKdsRNA)。PKdsRNA 的一个重要活性就是调节转录激活因子的调节蛋白的磷酸化作用。

☞ 例 11.7

称为 κB 抑制因子(IκB)的调节蛋白结合到称为核因子 κB(NFκB)的转录激活因子并阻止其成为激活因子。然而，通过对抑制因子的磷酸化作用，PKdsRNA 使 IκB 和 NFκB 分离。此作用使 NFκB 游离，从而使它能进入核内并结合到促进干扰素(INF)基因表达的增强子位点上。

由病毒感染引起的信号转导通路包括依赖于双链 RNA 的蛋白激酶(PKdsRNA)。通过磷酸化作用,PKdsRNA 使核转录因子 κB(IκB)的抑制因子(NFκB)失活。游离的 NFκB 激活 INF-β 基因。INF 基因的转录需要许多寄主激活因子包括 NFκB。在下列信号转导通路中,==>:产生,-->:刺激,--|:抑制。

病毒==> dsRNA --> PKdsRNA --| IκB ==> NFκB --> INF－β基因==> INF-β

当病毒抗原存在于受感染细胞表面时,RNA 和 DNA 病毒诱发干扰素合成。被感染细胞和抗原呈递细胞(例如巨噬细胞)能在类型Ⅰ和类型Ⅱ主要组织相容性复合体(MHC-Ⅰ和 MHC-Ⅱ:见第 13 章)上呈现病毒抗原。通过表面 CD(细胞分化)蛋白质,不同 T 淋巴细胞识别 MHC-Ⅰ和 MHC-Ⅱ。T 淋巴细胞受体特异性结合到 MHC 呈递的抗原上。含特异性抗原 TCR 和 CD8 受体的细胞毒性 T 淋巴细胞通常结合到含 MHC-Ⅰ呈递的病毒抗原的被感染细胞上。辅助 T 淋巴细胞和特殊 TCR 和 CD4 受体结合到 MHC-Ⅱ呈递的病毒抗原的巨噬细胞上。MHCs 及抗原分别和 CD 及 TCR 结合启动淋巴细胞中的一个信号,此信号引起 IFN-γ 的合成。在下列信号转导通路中,==>:产生,-->:刺激,--|:抑制。

MHC－病毒抗原--> TCR+CD 受体--> G --> PLC ==> DG＋IP_3

IP_3 ==> Ca^{2+}

DG+Ca^{2+} --> PKC --> TF --> IFN-γ 基因==> IFN-γ

T 细胞分泌的 IFN－γ 促使没感染细胞合成更多 MHC-Ⅰ分子。这就使免疫系统攻击任何被感染细胞更为有效。一旦感染开始,新感染的细胞能呈递给免疫细胞高浓度的病毒抗原。由于 MHC-Ⅰ分子产物的增加引起直接的细胞破坏可阻止病毒合成。在下面的信号转导通路中,GAF=γ 干扰素激活因子,GAF(P)=磷酸化作用激活 GAF,NFκB=核转录因子 κB,IRF－1=干扰素调节因子,H－2Dd=MHC-Ⅰ受体的重链。

IFN-γ--> R --> G -->? ==>? --> PK? --> GAF

GAF(P)+NFκB+IRF－1--> MHC-Ⅰ基因==> H-2Dd

11.19　病毒感染通常激活水解 ssRNA 病毒染色体和病毒 mRNA 的 RNA 酶 L。此 RNA 酶 L 是如何被激活的?

RNA 和 DNA 病毒感染都可以引起 **2′→5′polyA 合成酶**(2′→5′polyA synthetase,PAS)的产生。至少有四种不同类型的 PAS:单体(p100)、豆蔻酰二聚体(2p69)、大四聚体(4p40－46)和小四聚体(4p20－30)。在下列信号转导通路中,==>:产生,-->:刺激,--|:抑制,--Ⅲ:水解。

病毒==> dsRNA --> PKdsRNA --| IκB ==> NFκB --> PAS 基因==> PAS

poly A 合成酶利用 ATP 合成 **poly A 寡核苷酸**(poly-A oligonucleotide,PAON),其中核苷酸通过它们的 2′和 5′碳原子连接。

PAS+ATP ==> PAON

PAON 激活 **RNA 酶 L**(RNase－L)的活性。RNA 酶 L 使 ssRNA 降解并通过破坏病毒染色体或用来合成染色体的模板抑制单链 RNA 病毒。此酶还通过减少某些转录子的半寿期抑制一些 DNA 病毒。

PAON --> RNA 酶 L --Ⅲ病毒 ssRNA

激活 RNA 酶 L 的信号转导通路对于破坏细小核糖核酸病毒如脊髓灰质炎病毒和脑心肌炎病毒(EMCV)很重要。然而,PAS/RNA 酶 L 通路的激活不足以破坏 ssRNA 病毒如弹状病毒科的疱疹性口腔炎病毒(VSV),此原因尚不清楚。

11.20　干扰素如何阻断病毒蛋白合成?

因为 α 干扰素和 β 干扰素使 NFκB 与其抑制因子分离,它们能诱发许多特异表达涉及病毒抑制的蛋白质。INF 引起依赖于 dsRNA 蛋白激酶的合成。病毒感染使真核启动子的 α 亚

单位磷酸化并抑制它，从而使蛋白激酶(PKdsRNA，也称为 PKeIF－2)激活。这就能阻止寄主和病毒 mRNA 翻译的开始。

INF－α/β--> R --> G --> PLC ==> DG --> PKC－η --| IκB ==> NFκB

NFκB --> PKdsRNA 基因==> PKdsRNA

病毒==> dsRNA --> PKdsRNA --| eIF－2 ==>没有细胞和病毒转录

正黏病毒科的流感病毒和弹状病毒科的脑心肌炎病毒的转录都被蛋白质 Mx1 抑制。一旦 NFκB 和其抑制因子分离，INF－α 和 INF－β 引起 Mx1 产生。

NFκB--> Mx1 基因==> Mx1 --|细胞和病毒转录

信号转导与细胞周期

11.21 涉及 G_0 --> G_1 转变的信号转导通路是什么?

不增殖细胞处于细胞周期的"不生长"(G_0)状态。G_0 细胞仅由那些维持生活和进行任何正常持有的特殊功能的基因表达。在 G_0 期，染色质主要为螺线管形式(第 3 章)。为了开始细胞周期的第一生长期(G_1)，细胞必须由一个以上生长因子作为信号。

例 11.8

通过结合到有酪氨酸激酶活性的受体上，血小板衍生生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、神经生长因子(NGF)和转化生长因子 β(TGF－β)促使 G_0 --> G_1 转变。

某些生长因子与其受体的结合可以激活受体的酪氨酸激酶活性，从而引起自磷酸化作用和其他激酶的磷酸化作用。多数这些次级激酶是丝氨酸-苏氨酸激酶。某些情况下，有活性受体激活 G 蛋白接着激活产生第二信使的酶。第二信使经常激活丝氨酸-苏氨酸激酶。

丝氨酸-苏氨酸激酶磷酸化转录激活因子或抑制因子并分别刺激或抑制它们。这就引起一系列基因的表达。特别是，表达 G_1 期细胞周期蛋白、CDPK、RNA 聚合酶、DNA 解旋酶和 DNA 聚合酶的基因在 G_1 期被表达。这些蛋白质在 G_1 期的积聚对于有丝分裂 S 期 DNA 的复制是必需的。

转录抑制因子的失活在 G_1 期也是很重要的。一个重要的肿瘤抑制因子就是成视网膜细胞瘤蛋白(Rb；p110)和类似的蛋白 P107(p107)。成视网膜细胞瘤蛋白由 928 个氨基酸组成，在接近 G_1 期末尾和 S 期开端时高度磷酸化，最终在丝氨酸和苏氨酸残基上有 11 个磷酸基。在其高度磷酸化形式中，Rb 和转化因子 E2f 及 Drtf1 发生联系并将它们从循环中除去。这样一来，Rb 不是一个结合到 DNA 上并通过干扰 RNA 聚合酶结合的"经典抑制因子"。

通过和转录因子发生联系，Rb 反面调节 *c－fos* 基因(编码转录激活因子蛋白 Fos)、*c－myc* 基因(特异表达一个具有 DNA 复制所需的解旋酶活性的转录激活因子)、**编码转化生长因子 β**(transforming growth factor－β，TGF－β)的基因和编码二氢叶酸还原酶(Dhfr)的基因。Rb 和 E2f 相互作用的研究显示高度磷酸化的 Rb 通过使 E2f 隔离因而使此肿瘤抑制因子失活来阻端转录。通过释放 E2f 促进转录的信号转导通路总结如下。在下面的信号转导通路中，FGF 为成纤维细胞生长因子，Rb 为成视网膜细胞瘤蛋白。

FGF -->酪氨酸激酶-->丝氨酸-苏氨酸激酶==| Rb ==> E2f -->转录

11.22 在 G_1 --> S 转变过程中，磷酸化作用的重要性是什么且涉及什么信号转导通路?

从酵母细胞(细胞周期蛋白 B)到动物细胞(细胞周期蛋白 D、E 和 A)的真核细胞的 G_1 期中合成的 G_1 期细胞周期蛋白是**细胞分裂控制激酶**(cell division control kinase，CDCK)也称为**促有丝分裂因子**(mitosis-promoting factor，MPF)的调节亚单位。在酵母细胞中，CDCK 的

催化亚单位命名为 Cdc(细胞分裂控制)。G_1 期细胞周期蛋白和许多细胞周期其他期合成的细胞周期蛋白可以激活 Cdc 活性,因此此激酶的催化亚单位也称为**依赖于细胞周期蛋白的激酶**(cyclin-dependent kinase,Cdk)。通过 Cdk 某些苏氨酸和酪氨酸的磷酸化和去磷酸化作用,酵母 G_1 细胞周期蛋白-Cdk 复合体被激活。

模型显示,G_1 细胞周期蛋白-Cdc 激酶通过磷酸化 H1(组蛋白-1)和 Rb(成视网膜细胞瘤)蛋白促进 G_1 --> S 转变。H1 的磷酸化作用使 DNA 从螺旋管形式分散为伸展的核小体形式。Rb 蛋白的磷酸化作用引起 RNA 聚合酶结合到启动子区域所需的螯合(结合)转录因子(例如 E2f)的释放。转录因子和激活因子与它们受体分离后结合到 DNA 上。这就促使 RNA 聚合酶结合到启动子部位并促进复制起点的 RNA 引物的合成,接着引起 DNA 复制。在某些分化细胞中,G_1 细胞周期蛋白-Cdc 激酶可以在 DNA 复制开始前激活或抑制其他调节蛋白。

11.23　DNA 复制是如何限制到每个细胞周期一轮的?

如果在 S 期开始时真核细胞的 DNA 复制超过一轮,则最后得到的细胞每个染色体有多个拷贝。这对于细胞的正常功能是有害的。为了防止这种情况的发生,细胞必须有一个机制在 DNA 复制开始一轮后阻止 DNA 复制的开始。研究显示,称为细胞分裂控制激酶(CDCK-1)的 G_1 细胞周期蛋白激酶(在哺乳动物中是细胞周期蛋白 D、E、A)促使磷酸酶去磷酸化 H1 和 Rb。这就导致起始位点的聚集和 E2f 的螯合。另外,CDCK-1 激活使蛋白泛素附着到靶蛋白上且使它们蛋白水解的酶复合体,从而导致某些 G_1 细胞周期蛋白(酵母细胞周期蛋白 B;哺乳动物细胞周期蛋白 D 和 E)的迅速破坏。哺乳动物 CDCK-1(通过细胞周期蛋白 D 和 E 的破坏)的失活将允许 Rb 再次高度磷酸化并结合到 E2f 上。这就阻止引物合成的进一步开始。

据报道,G_1 细胞周期蛋白不仅是酵母 DNA 复制起始所需的,还是 DNA 延伸所需的,因为 DNA 延伸需要 DNA 聚合酶 δ-细胞周期蛋白 B 复合体。游离细胞周期蛋白 B 的去磷酸化作用且或者通过泛素系统使之破坏将帮助 DNA 复制限制到每个细胞周期一轮。

11.24　G_2 期合成的什么蛋白是细胞周期进展所需的?

G_2 期就是第二生长期,它发生在 DNA 复制期(S 期)后。连续以生长因子为信号并通过 G_1 期合成的新调节蛋白打开特殊细胞周期蛋白基因(在酵母中是细胞周期蛋白 A;在哺乳动物中是细胞周期蛋白 A 和 B)。G_2 细胞周期蛋白在 G_2 期聚集从而增加新一组细胞分裂控制激酶(CDCK-2)的活性。CDCK-2 通过一系列类似于那些激活 CDCK-1 激酶的磷酸化和去磷酸化作用被激活(图 11-9)。CDCK-2 激酶的底物特异性有别于 CDCK-1 激酶的特异性。CDCK-2 激酶磷酸化核膜上的核纤层蛋白,核内的支架蛋白和微管相关蛋白激酶(MAP-激酶)。

11.25　什么促使 G_2 --> M 转变?

染色体支架蛋白的磷酸化作用导致螺线管染色体结构聚集到支架上。在凝聚染色体的模型中,螺线管环在支架上 18 次形成盘状结构。这些盘发展为一个连一个直到全部染色体成为最聚集的形式,环-螺线管结构在以前讨论过(见第 3 章)。

CDCK-2-->拓扑异构酶==> DNA 聚集为环-螺线管形式

CDCK-2 激酶还涉及核纤层蛋白 A、B 和 C 的磷酸化作用。核纤层蛋白是使染色体的螺线管形式结合到内核酶的蛋白质。核纤层蛋白 B 和内核膜相联系,而核纤层蛋白 A 和 C 结合到染色体上。核纤层蛋白 A 和 C 磷酸化后,染色体和内核膜分开。核纤层蛋白 B 的磷酸化作用也促进核膜的断裂。

CDCK-2-->核纤层蛋白 A,B,C ==>核膜断裂==>由膜释放的染色体

CDCK-2 激酶还通过磷酸化作用促使**钙调结合蛋白**(caldesmon)和钙离子螯合。(螯合

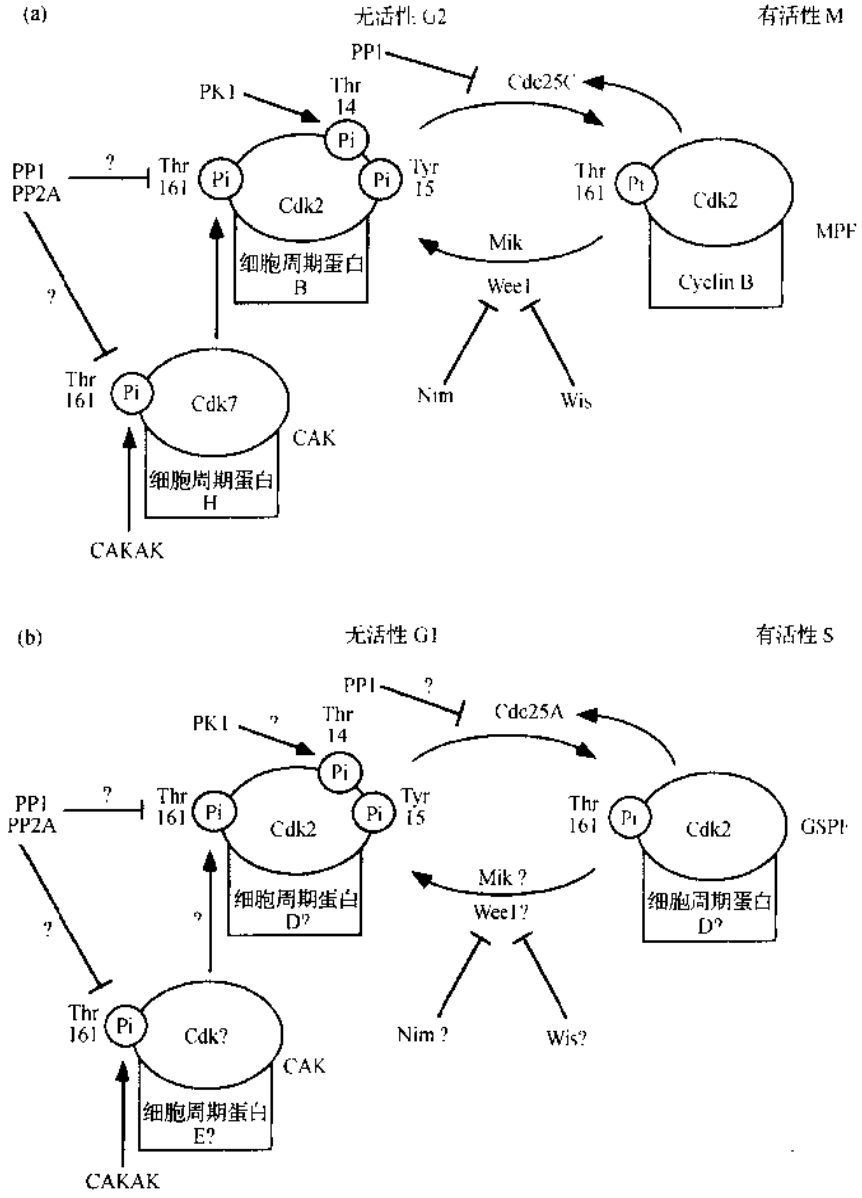


图 11－9　依赖于细胞周期蛋白的激酶的激活和失活。(a)在脊椎动物中，当依赖于细胞周期蛋白的激酶(Cdk2)和细胞周期蛋白 B 发生联系时，复合物被称为促有丝分裂因子(MPF)。此复合物在从细胞周期 G_2 到 M 的转变过程中因去磷酸化作用而被激活。磷酸酶 Cdc25C(细胞分裂控制)从 MPF 的 Cdk2 亚单位的苏氨酸 14 和苏氨酸 15 上除去磷酸。Cdc25C 被同样的 MPF 激活，而 Cdc25C 被一个没有识别的磷酸酶 PP1 去活。MPF 也可通过苏氨酸 15 的磷酸化作用被去活。磷酸化作用通过和酵母 Mik 及 Weel 相关的蛋白激酶进行。Nim 和 Wis 是抑制 Weel 的蛋白质。无活性 G_2MPF 在苏氨酸 161 上被和称为依赖于细胞周期蛋白激酶激活激酶(CAK)的细胞周期蛋白 H 结合的 Cdk7 磷酸化。CAK 被 CAK－激活激酶(CAKAK)激活，CAKAK 依赖于苏氨酸 161 的磷酸化作用。蛋白磷酸酶(PP1 和 PP2A)可以通过除去磷酸使 CAK 且或者 MPF 失活。一个没有识别的蛋白激酶(PK1)在苏氨酸 14 上使 MPF 磷酸化并使之失活。为了从有丝分裂中期进入分裂后期，MPF 必须失活。失活通过细胞周期蛋白 B 的蛋白水解降解也可通过 Cdk2 的去磷酸化作用发生。(b)当依赖于细胞周期蛋白的激酶和细胞周期蛋白 D 发生联系时，复合物被称为促 G_1 到 S 因子(GSPF)。此复合物在从细胞周期的 G_1 期向 S 期的转变过程中因去磷酸化作用被激活。磷酸酶 Cdc25A 从 Cdk2 亚单位的苏氨酸 14 和酪氨酸 15 上除去磷酸。Cdc25A 被 GSPF 激活，而 Cdc25A 被一个没有识别的磷酸酶 PP1 失活。GSPF 因酪氨酸 15 的磷酸化作用失活。据推测，磷酸化作用通过和酵母 Mik 及 Weel 相关的蛋白激酶进行。无活性 G_1GSPF 在苏氨酸 161 上被和称为依赖于细胞周期蛋白激酶激活激酶(CAK)的细胞周期蛋白 E 结合的 Cdk 磷酸化。在此例中，CAK 通过苏氨酸 161 的磷酸化作用被 CAK 激活激酶(CAKAK)激活。蛋白磷酸酶如 PP1 和 PP2A 可通过除去磷酸使 CAK 且或者 GSPF 失活。一个没有识别的蛋白激酶(PK1)在苏氨酸 14 上 GSPF 磷酸化并使之失活。为了从 G_1 期进入 S 期，GSPF 必须失活。失活通过细胞周期蛋白 D 的蛋白水解降解更有可能通过 Cdk2 的去磷酸化作用发生。

物是结合到无机离子上的有机化合物，形成相对稳定的、惰性的、水溶性复合体。）这就导致细胞质中低浓度的钙离子，从而促进微管组织中心或细胞每极的中心体的微管蛋白的聚合。

CDCK－2 -->钙调结合蛋白==> Ca^{2+} 减少-->微管蛋白聚合

称为 Tau 的微管相关蛋白（MAP）的磷酸化作用促进微管的聚合。现认为 Tau 被 CDCK－2 磷酸化。

CDCK－2--> Tau ==>微管蛋白聚合

中心体微管朝细胞中心聚合。一些微管附着到重复染色体每个染色单体着丝粒的着丝点上。成长的微管将染色体推向细胞中心，在那儿互补微管同样稳定。

11.26　什么信号促进细胞超过有丝分裂中期？

从分裂中期到分裂后期需要染色单体的分开和微管的解聚。启动染色单体分开的分子信号还不知道，但关于发生了什么也有些暗示。染色单体的分开取决于 G_2 细胞周期蛋白（酵母中是细胞周期蛋白 A；哺乳动物中是细胞周期蛋白 A 和 B）的迅速破坏和 CDCK－2 的失活。据推测，G_2 细胞周期蛋白的水解由 CDCK－2 激活的泛素系统进行。另外，使钙调结合蛋白和 Tau 去磷酸化的磷酸酶的激活促进微管的解聚。

微管的解聚发生在着丝粒上。着丝粒模型显示，着丝点沿微管束“行走”，当其前行时使微管蛋白变得不稳定。这样一来，着丝粒和相关染色体沿变短的微管束移动。

着丝粒维持染色单体在一起的蛋白质的去磷酸化作用，也可使染色单体分开，而钙结合蛋白和微管稳定蛋白的去磷酸化作用可促进微管蛋白的解聚和互补染色体向相反极移动。

11.27　在动物细胞有丝分裂末期，什么信号促进新核的形成？

许多细胞断裂的核膜储存于内质网膜。一些储存的膜仍旧保留它们的孔复合物。分裂末期每极染色体外核膜的形成依赖于结合到染色体的核纤层蛋白 A 和 C 及和核膜小泡相联系的核纤层蛋白 B 的去磷酸化作用。去磷酸化的核纤层蛋白 A、C 和染色体作为核膜形成的“成核中心”（起始中心）。资料显示，早于细胞分裂控制激酶激活的磷酸酶可能是核膜合成的重要因素。

11.28　什么信号导致动物细胞的胞质分裂（细胞分裂）？

胞质分裂可以开始于有丝分裂末期或延迟到有丝分裂结束。动物细胞胞质分裂的第一个信号就是两个新形成的核间细胞中心质膜的内陷。质膜内陷是由膜下肌动蛋白-肌球蛋白带变紧造成的。

如果肌动蛋白-肌球蛋白带的作用类似平滑肌内的肌动蛋白和肌球蛋白，带的收缩由细胞中心钙离子的增加和肌球蛋白轻链激酶（MLCK）的磷酸化作用启动。钙离子和钙调蛋白的结合促进钙调结合蛋白的运动，以使肌球蛋白头部和肌动蛋白丝发生联系。MLCK 被 PKA 和 PKC 磷酸化，而 PKA 和 PKC 分别被 cAMP 和 IP_3 的合成激活。MLCK 磷酸化肌球蛋白轻链，从而促进肌球蛋白头部和与钙调结合蛋白分开的肌动蛋白相互作用。

11.29　什么信号使细胞进入 G_0 期而不是 G_1 期？

细胞周期重复进展（G_1 --> S --> G_2 --> M --> C --> G_1 -->等）需要生长因子的持续刺激。在正常细胞中，如果相同的细胞彼此联系，促进细胞周期增进的信号转导通路可被阻断。此现象被认为是接触抑制。接触抑制的模型显示，依靠接触抑制，结合在一起的邻近细胞上表面受体抑制膜上酪氨酸激酶（c－Src）。结果就是，质膜下细胞骨架蛋白的**黏着斑**（adhesion plaque）的形成及细胞骨架和质膜间稳定联系的形成。此情况可阻止刺激新一轮细胞周期的信号转导通路。

现认为，靠细胞质一边的膜上的酪氨酸激酶（如 Src）破坏膜上细胞骨架和某些受体间的

联系。这就消除了一些细胞分裂和运动的限制因素，细胞分裂和运动都需要细胞样变化。黏着斑是有大量表面受体和细胞骨架间联系的区域。表面受体和细胞骨架间的联系也有利于黏着斑。

某些肽信号的存在且或者信号转导的缺乏可导致蛋白质例如 P53 和 Rb 的激活或诱导，P53 和 Rb 抑制细胞周期。P53 是引起 P21 合成的转录激活因子。P21 抑制 Pcna 和 CDCK - 1 激酶，从而阻止 DNA 复制的开始。同样，Rb 抑制 E2f，然后阻止 DNA 复制的开始。

总体上讲，接触抑制抑制膜激酶并确保信号转导通路是失活的。生长因子的缺乏，信号转导通路的失活和抑制蛋白(P53、Rb)的积聚引起细胞进入 G_0 期。生长因子阻止促进细胞周期蛋白 A 和活性激酶(影响 P53 和 Rb 活性或合成)合成的接触抑制，引起细胞再次开始细胞周期。

细胞转化与癌

11.30　信号转导通路是如何成为永久性改变的？这种情况又是怎样导致转化细胞的？

在信号转导通路中起作用的蛋白质通常有两种存在方式：有活性和无活性。它们的活性经常取决于磷酸化的程度和辅助蛋白例如成视网膜细胞瘤蛋白。

特异表达信号转导蛋白的基因偶尔因为突变而改变。一些突变使信号转导蛋白失去功能，而其他的改变了那些涉及蛋白调节的区域以使信号转导蛋白永久性处于活性状态。产生无功能信号转导蛋白的细胞一般会死亡。产生总是有活性信号转导蛋白的细胞行为异常。它们打开不应打开的基因，改变细胞的生理或它们可引起细胞在连续的细胞周期中重复进展。

许多突变的信号转导蛋白即癌基因产物在转化的和癌细胞(表 11.3)中发现。特异表达突变信号转导蛋白的细胞基因称为癌基因，而对于它们的正常细胞对应物则被称为原癌基因。所有癌基因产物目前可归为九个主要类别：①组成型肽类激素(Sis)；②改变的肽类激素受体(ErbB、Fms)；③改变的 G 蛋白(Ras)；④改变的膜或细胞质酪氨酸蛋白激酶(Src、Fes)；⑤改变的细胞质丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(Mos、Raf)；⑥改变的细胞质生长激素受体(ErbA)；⑦改变的核 DNA 结合蛋白和转录激活因子(Fos、Jun、Myc)；⑧改变的细胞周期蛋白(G_1 细胞周期蛋白)；⑨改变的抑制肿瘤抑制基因产物或阻止它们合成的蛋白质(Mdm)。

表 11.3　原癌蛋白及其相应的癌蛋白质

原癌蛋白类型	符　号	癌蛋白质
生长激素		
血小板衍生生长因子	PDGF	Sis
膜受体		
上皮生长因子受体	EGFR	ErbB
巨噬细胞集落刺激因子	MCSFR	Fms
膜调节蛋白		
G 蛋白	G	H-Ras、N-Ras、K-Ras
膜激酶		
酪氨酸激酶	PKtyro	Src
细胞质激酶		
酪氨酸激酶	PKtyro	Fes
丝氨酸-苏氨酸激酶	Pkser-thr	Mos、Raf
细胞质受体		
甲状腺激素受体		ErbA
核调节蛋白		
转录激活因子	TA	Fos、Jun、Myc
激酶亚单位(活化)		
细胞周期蛋白	Cyclin	Cyclin
肿瘤抑制蛋白的抑制物		
抑制因子	Mdm	Mdm

反面控制信号转导通路(肿瘤抑制蛋白 P53 和 Rb)的蛋白质的突变也可导致细胞转化和肿瘤及癌(表 11.4)的发展,因为不应该有活性的信号通路变得有活性。反面控制信号转导通路的许多蛋白质在癌细胞中缺失或发生异常。当这些调节蛋白被取代时,转化细胞经常会恢复一些它们的正常特点。治疗转化细胞的蛋白质被称为**肿瘤抑制蛋白**(tumor-suppressor protein),包括成视网膜细胞瘤蛋白(Rb)、P107 蛋白(p107)、P53(p53)、神经纤维瘤蛋白(Nf1、Nf2)、维耳姆斯氏瘤蛋白(Wt1、Wt2)、结肠-直肠癌缺损蛋白(Dcc)、家族性多发性腺癌蛋白(Fap)和抑制素-α(inh)蛋白。图 11-10 列出了涉及结肠-直肠癌发展的一些癌基因和肿瘤抑制基因。图 11-10 左边突变的次序以每个癌发展阶段发现特殊突变的频率为基础。Rb、P107、P53、Nf 和 Wt 如何起作用的初步研究显示,它们每一个都涉及负面调节蛋白:Rb 和 Wt 抑制转录因子;P53 和 P107 抑制细胞周期蛋白;P53 和 Nf 抑制 Ras 蛋白;P107 抑制激酶。Dcc 似乎是细胞稳定所需的在细胞表面的吸附蛋白。

表 11.4　肿瘤抑制蛋白

符　号	蛋白质名称	特　征
Rb	成纤维细胞瘤蛋白	调节 E2f*
	(p110Rb)	人类染色体位置:13q14.1**
		结合到启动子区域和抑制转录
P107	p107 蛋白质	调节 E2f 和 CDPKs*
P53	p53 蛋白质	调节 Cip(P21)、P16、Ras(p21)*、Myc* 和 DNA 聚合酶 α
		人类染色体位置:17p12-13
		结合到启动子区域和激活转录
		调节转录激活因子?
Wt1,Wt2	维耳姆斯氏瘤蛋白	人类染色体位置:11p13&11p15
		结合到启动子区域
		作为活化 GTP 酶调节 Ras(p21)*
Nf1,Nf2	神经纤维瘤蛋白类型	蛋白质(Gap)
	1,2(neurofibromin)	调节细胞吸附
Dcc(P190)	结肠-直肠癌缺损蛋白	人类染色体位置:18q21
		未知的调节特点
Fap	家族性多发性腺癌蛋白	人类染色体位置:5q21～22
		作为抑制生长因子调节信号转导通路
Inh	抑制素 α	类似 TGF-β 家族的许多成员

* E2f:转录因子;CDPK:依赖于细胞周期蛋白的酸酶;Ras(p21):单体 G 蛋白;Myc:DNA 结合蛋白,被认为是一个解旋酶;Inh:抑制素,它和转化生长因子-β(TGF-β)相关。

** 基因在染色体内的位置由常染色体数(1～22),支臂(p 或 q)和从着丝粒计数的支臂内的片段给予。有时片段不能精确知道,因此给出了一系列片段。

11.31　转化细胞是如何发展成肿瘤和癌的?

一旦细胞获得原癌基因或肿瘤抑制基因突变促进细胞的繁殖,其他原癌基因或肿瘤抑制基因的第二突变就会发生并使突变种群的细胞失去控制。这些第二突变维持许多不同类型失控细胞的存活和繁殖(图 11-10)。

许多原癌基因的自发性突变可使它们变为影响许多信号转导通路的癌基因。原癌基因和活性启动子区域的重组可以增加信号转导通路的成分并破坏它们的正常功能。重复染色体的维持也可增加原癌基因,因此产生许多它们的产物。肿瘤抑制基因可通过自发性突变或通过这些基因所处的整个或部分染色体的缺失除去。

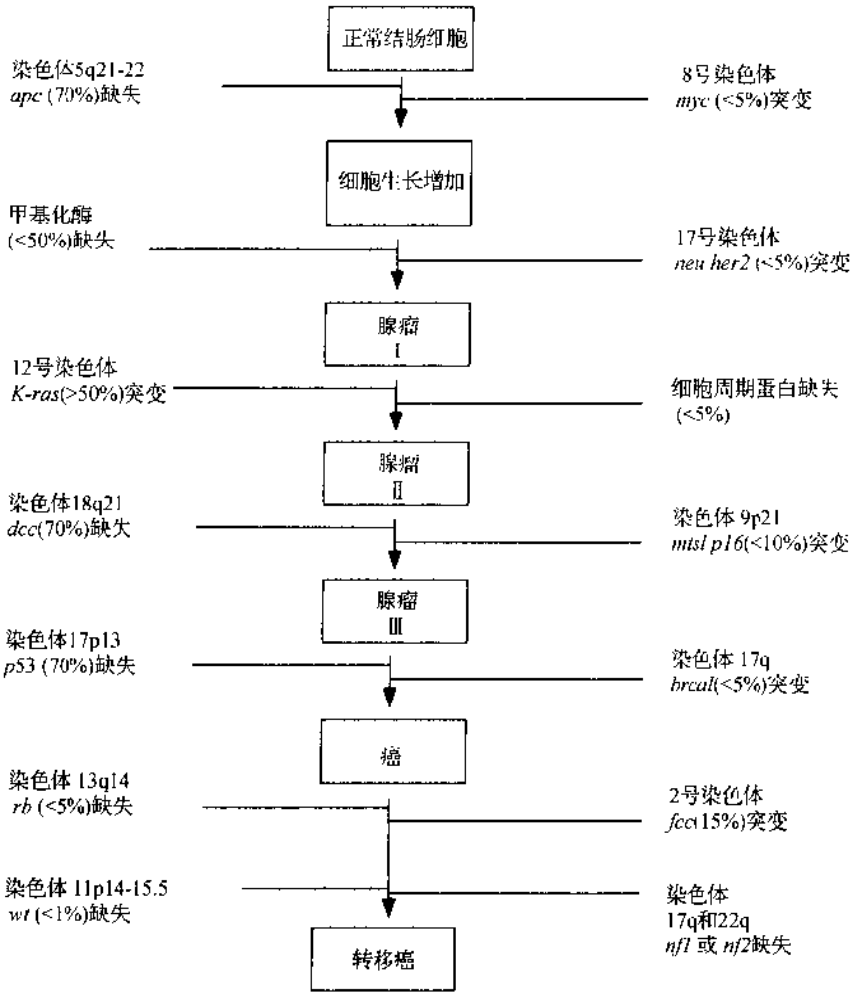


图 11-10 结肠癌的发展步骤。正常人类结肠细胞经常通过肿瘤抑制基因的一个突变开始发展为癌，肿瘤抑制基因位于片段 21 和 22 间的 5 号染色体的长臂(q)上的 adenomatous polyposis complex(apc)区域。超过 70%的结肠癌中都可发现此突变。在超过 70%的结肠癌中发现的其他突变包括那些其他肿瘤抑制基因的突变，例如染色体 17 上的 *p53* 和染色体 18 上的 *dcc*(结肠-直肠瘤中的缺损)。编码甲基化酶的基因突变发生在大约 50%结肠癌中，而 *rb* 和 *wt* 中的突变很少发生。当肿瘤抑制基因不起作用时，有时整个染色体都会缺失。原癌基因 *K-ras* 中的突变发生在 50%以上的结肠癌中。2 号染色体上原癌基因(*fcc*)的突变涉及引起家族性结肠癌。原癌基因的其他突变包括那些在许多染色体上的细胞周期蛋白基因(在小于 5%的结肠癌中发生异常)，染色体 8 上的 *myc*(在小于 5%的结肠癌中发生异常)和染色体 17 上的 *neu/her2*(在小于 5%的结肠癌中发生异常)的突变。腺瘤是发生在腺上皮的恶性肿瘤，腺上皮中的肿瘤细胞仍以可识别的腺结构进行排列。癌是不再形成可识别组织的任何类型上皮细胞的恶性生长。

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 某些细菌中的光感受体类似于动物眼内的光感受体。细菌光感受体被称为(　)。 (a)色光的 (b)叶绿素 (c)细菌视紫红质 (d)视紫红质 (e)以上均不是

2. 磷酸化蛋白的酶为(　)。 (a)蛋白激酶 (b)磷酸酶 (c)激酶 (d)磷酸化酶 (e)以上均不是

3. 有作为酪氨酸激酶的细胞质区域的蛋白质是(　)的受体。 (a)EGF (b)PDGF (c)胰岛素 (d)以上均是 (e)以上均不是

4. 一般来说，G 蛋白的(　)亚单位激活邻近的通道和酶。　(a)α　(b)β　(c)γ　(d)β，γ　(e)α，β，γ

5. 鸟嘌呤核苷酸释放因子的作用是(　)。　(a)抑制 Ras　(b)激活 Ras　(c)抑制三联体 G 蛋白　(d)激活三联体 G 蛋白　(e)以上均不是

6. GTP 激活蛋白(GAP)的作用是(　)。　(a)抑制 Ras　(b)激活 Ras　(c)抑制三联体 G 蛋白　(d)激活三联体 G 蛋白　(e)以上均不是

7. (　)是 GTP 激活蛋白(GAP)的例子。　(a)成视网膜细胞瘤蛋白　(b)P107　(c) 维耳姆斯氏瘤蛋白　(d)神经纤维瘤蛋白　(e)细胞周期蛋白 A

8. 脂质 A 促进(　)因子的合成。　(a)血小板衍生生长因子(PDGF)　(b)上皮生长因子(EGF)　(c)转化生长因子(TGF)　(d)肿瘤坏死因子(TNF)　(e)以上均不是

9. RNA 病毒感染一般会导致染色体组复制过程中双链 RNA 的形成。双链 RNA 激活(　)酶的活性。　(a)干扰素　(b)依赖于双链 RNA 的蛋白激酶　(c)磷脂酶 C　(d)鞘磷脂酶　(e)肿瘤坏死因子

10. γ 干扰素促进使抗原呈递给 T 淋巴细胞的表面蛋白质的合成。(　)是刺激细胞毒性 T 细胞的抗原呈递分子。　(a)抗体　(b)Fc 受体　(c)类型Ⅰ主要组织相容性复合体(MHC-Ⅰ)　(d)类型Ⅱ主要组织相容性复合体　(e)以上均不是

11. (　)因子直接破坏病毒的增殖。　(a)RNA 酶 L　(b)干扰素　(c)肿瘤坏死因子　(d)多聚 A 合成酶　(e)干扰素调节因子

12. 活性酵母 CDCK－1(Cdk－细胞周期蛋白 B 复合体)磷酸化组蛋白－1(H1)。此作用引起(　)。　(a)DNA 解聚为伸展的核小体形式　(b)Rb 蛋白释放 E2f　(c)转录因子的合成　(d)泛素系统降解细胞周期蛋白 B　(e)以上均不是

13. 在 DNA 复制开始后，启动子部位被(　)“关闭”。　(a)H1 去磷酸化使 DNA 聚合　(b)Rb 去磷酸化使转录激活因子例如 E2f 不再游离　(c)破坏细胞周期蛋白 B 使 DNA 聚合酶 δ 不能开始合成前导链　(d)以上均是　(e)以上均不是

14. 活性 CDCK－2 磷酸化核纤层蛋白，拓扑异构酶和微管相关蛋白。这就引起(　)。　(a)染色体和核膜分开　(b)核膜断裂　(c)螺线管 DNA 聚集为基质蛋白　(d)微管从微管组织中心或中心体聚合　(e)以上均是

15. 在分裂中期，Cdk－细胞周期蛋白复合体发生了(　)。　(a)什么也不发生　(b)仅 Cdk 降解　(c)仅细胞周期蛋白 A 降解　(d)Cdk 和细胞周期蛋白 A 都降解　(e)以上均不是

16. 肿瘤抑制蛋白 fit 属于(　)一类。　(a)G 蛋白的抑制因子　(b)抑制信号转导通路的表面受体　(c)使转录激活因子隔离并抑制它们的蛋白质　(d)以上均是　(e)以上均不是

是非题　正确的答案写“T”，错误的答案写“F”。

1. 眼睛视杆细胞和视锥细胞的光感受体被称为光敏色素。

2. 肽类激素和神经递质结合到细胞质受体上。

3. 丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶在丝氨酸或苏氨酸上磷酸化蛋白质。

4. 骨骼肌内的乙酰胆碱受体是钠离子通道。

5. 一些乙酰胆碱受体打开通过中间体即 G 蛋白的钾离子通道。

6. G 蛋白可以刺激或抑制蛋白质。

7. 有许多称为 PKC 的蛋白激酶。有些由二酰甘油刺激，有些通过钙离子，还有一些被二酰甘油和钙离子同时刺激。

8. 哺乳动物肌肉磷酸化激酶由四个催化亚单位，四个钙结合亚单位和八个被 PKA 磷酸化的调节亚单位组成。

9. 被脂质 A 刺激的通路导致核转录因子 NFκB 的激活。

10. 被肿瘤坏死因子刺激的信号转导通路中，二酰甘油(DG)激活降解鞘磷脂的酶。

11. 鞘磷脂水解产生的活性第二信使是神经酰胺。
12. 脂质 A 和肿瘤坏死因子都引起 NFκB 和其抑制因子分离因而激活需要此因子的基因。
13. 大量肿瘤坏死因子引起细胞冲水肿胀并破裂，此过程就是坏死。
14. 肿瘤坏死因子起作用的模型显示，肿瘤坏死因子激活蛋白激酶，蛋白激酶又阻断维持细胞程序死亡抑制因子合成的信号转导通路。
15. 肿瘤坏死因子和 γ 干扰素的效果被维持凋亡抑制因子在合适水平的生长因子如 EGF 削弱。
16. 依赖于双链 RNA 的蛋白激酶(PKdsRNA)使 NFκB 和其抑制因子 IκB 分离。
17. 类型Ⅰ主要组织相容性复合体(MHC-Ⅰ)和病毒抗原的产生和呈递导致感染细胞的裂解和病毒工厂的破坏。
18. 病毒双链 RNA 促进多聚 A 合成酶的合成。此酶合成激活 RNA 酶 L 的多聚 A 寡核苷酸。RNA 酶 L 降解病毒 ssRNA。
19. 由肿瘤抑制蛋白 P53 引起的 P21 结合到细胞分裂控制激酶(CDCK)和增殖细胞核抗原(Pcna)，使它们隔离并抑制它们，从而使它们不能启动 DNA 复制。
20. 通过组蛋白 H1 和 Rb 的去磷酸化，DNA 复制被正常限制到每个细胞周期一轮。

匹配题 每个激酶(A 栏 1～4)和激活其活性的效应分子(B 栏 A～E)配对。

A 栏	B 栏
1. 蛋白激酶 A(PKA)	A. cAMP
2. 蛋白激酶 C(PKC)	B. 二酰甘油
3. 蛋白激酶 G(PKG)	C. 钙调结合蛋白
4. 蛋白激酶 CC(PKCC)	D. 细胞周期蛋白

每个酶(A 栏 5～9)和其产物(B 栏 A～E)配对。

A 栏	B 栏
5. 鸟苷酸环化酶	A. cAMP
6. 鞘磷脂酶(SMase)	B. DG 和 IP_3
7. 腺苷酸环化酶	C. cGMP
8. 磷脂酶 C	D. 磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP_2)
9. 磷脂酰肌醇 4-磷酸(PIP)激酶	E. 神经酰胺

每个癌基因产物(A 栏 10～15)和其一般功能(B 栏 A～E)配对。

A 栏	B 栏
10. Ras	A. 肽类激素
11. FosJun	B. 固醇类激素受体
12. ErbA	C. 上皮生长因子受体
13. ErbB	D. G 蛋白
14. Myc	E. 转录激活因子
15. Sis	

术语 除非特别指明，每个答案为一个词。

1. 眼睛视网膜细胞的光感受体分子。
2. 某些细菌的光感受体类似于动物眼睛中的光感受体。此光感受体被称为_____。
3. 化合物乙酰胆碱属于的信号分子的种类。
4. 用来描述刺激信号转导通路的信号的名称。

5. 激活蛋白激酶的二酰甘油，cAMP 和钙离子被称为_____。（两个词）
6. 促进 Ras 释放 GTP 的蛋白质。（四个词）
7. 促进附着在 Ras 上的 GTP 水解的蛋白质。（三个词）
8. 被 cAMP 激活的蛋白激酶。（三个词）
9. 在内质网和质膜打开钙离子通道的第二信使。（两个词）
10. 从蛋白质除去磷酸的酶的名称。
11. 引起巨噬细胞合成和释放肿瘤坏死因子的细菌内毒素部分。
12. 结合到受体上的肿瘤坏死因子激活水解磷脂酰胆碱的磷脂酶 C。从磷脂酰胆碱衍生得到的第二信使的名称是什么？
13. 描述凋亡的词。
14. 多数病毒感染促进阻止病毒繁殖的蛋白质的产生。这些抑制蛋白被称为_____。
15. 水解单链 RNA 的酶。
16. 通过磷酸化作用抑制转录起始因子 eIF－2 的酶名称为_____。（四或六个词）
17. 细胞周期蛋白刺激的 CDPK 的催化亚单位。（四个词，三个字母缩写）
18. 转录因子被隔离于核质并被哪个肿瘤抑制基因产物抑制？（两个词）
19. 引起细胞转化或患癌的蛋白质。
20. 缺乏哪个蛋白质引起细胞转化或患癌？（两或三个词）

答　案

选择题

1. c **2.** a **3.** d **4.** a **5.** b **6.** a **7.** d **8.** c **9.** b **10.** c **11.** a **12.** a **13.** d **14.** e **15.** c **16.** d

是非题

1. F(视紫红质) **2.** F(质膜受体) **3.** T **4.** F(钙离子通道) **5.** T **6.** T **7.** T **8.** T **9.** T **10.** T **11.** T **12.** T **13.** F(引起细胞收缩和碎裂，此过程称为细胞程序死亡) **14.** T **15.** T **16.** T **17.** T **18.** T **19.** T **20.** T

匹配题

1. A **2.** B **3.** C **4.** D **5.** C **6.** E **7.** A **8.** B **9.** D **10.** D **11.** E **12.** B **13.** C **14.** E **15.** A

术语

1. 视紫红质 **2.** 细菌视紫红质 **3.** 神经递质 **4.** 兴奋剂 **5.** 第二信使 **6.** 鸟嘌呤核苷酸释放因子 **7.** GTP 酶激活蛋白 **8.** 蛋白激酶 A(PKA) **9.** 肌醇 1,4,5－三磷酸(IP_3) **10.** 磷酸酶 **11.** 脂质 A **12.** 二酰甘油 **13.** 细胞程序死亡 **14.** 干扰素 **15.** RNA 酶 **16.** 依赖于双链 RNA 的蛋白激酶 **17.** 依赖于细胞周期蛋白的蛋白激酶(Cdk) **18.** 成视网膜细胞瘤蛋白(Rb P110) **19.** 癌蛋白质 **20.** 肿瘤抑制蛋白

12 多细胞有机体的发育

导　言

个体发育(ontogeny)是导致多细胞有机体发育的过程。尽管个体发育和发育这两个名词总是混用,但个体发育是更为专业的用法,专指在多细胞有机体发育过程中的关键步骤。19世纪胚胎学家 Ernst Haeckel 创造了"个体发育再现系统发育"的说法,即生物进化的起源浓缩(以一种修饰的方式)在了它们的胚胎生物学进化中。

例 12.1

早期人类胚胎发育有鳃和两心房的心脏,和成熟鱼中发现的一样。

单个细胞(合子)发育成带有大量特化细胞、组织和器官的多细胞生物的机制在20世纪得到了深入研究。传统上,动物胚胎学家集中在三个**初级胚胎层**(primary germ layer)的起源和发展的研究上。即**外胚层**(ectoderm),发育成神经和皮肤的外层;**内胚层**(endoderm),发育成消化道内层及相关器官;**中胚层**(mesoderm),由位于内胚层与外胚层之间的细胞和组织构成,是结缔组织、骨细胞、血细胞和肌肉细胞的起源。至20世纪80年代,才发现动物发育中的不同模式有基本的相似性。

大多数动物和植物的个体发育是处于基因序位,当然还有其他非发育基因,开或关两种方式的轮换调控。在大多数情况下,该基因活化的结果就是带有不同成熟组织的节段性动物或植物的发育。有些控制分裂的基因已在从蚯蚓到哺乳动物的动物中发现。在生物中发现的决定每部分特征的一种这类基因就像节肢动物和哺乳动物一样各不相同。DNA 分析显示这些节段基因自从非节段动物(线虫)和节段性无脊椎动物(蚯蚓和节肢动物)分化以来已很普及。植物中调控成熟组织发育的相关基因研究大大落后于动物。即使如此,我们已知存在调控节段性区域发育的主基因,并知道它们的作用。植物的发育将在本章最后讨论。

表面上,鱼、两栖动物、爬行动物和哺乳动物不会出现像蚯蚓和节肢动物的节段,但它们确是这样的。在节肢动物中直接分裂的许多同样的基因或相关接近的基因也在脊椎动物中控制分裂。在脊椎动物的躯体(头、颈、胸、腹、腰、尾)内直接分裂的基因也参与了肢体的发育。这一发现强化了肢体是节段的附件这一事实。

大量与操纵分裂的基因关联的基因家族控制着由末端细裂片形成的头和尾的发育。还有其他类型的基因控制着一个生物腹轴和背轴的发育。参与动物身体分节的基因称为分**节基因**(segmentation gene)。控制生物前面和后面的基因称为**末端基因**(terminal gene),而决定背部和腹部区域特征的基因叫做**腹背基因**(ventral-doral gene)。

为了理解在大多数多细胞动物中分节发育的重要性,本章将从已被深入研究的果蝇(*Drosophila*)的遗传和发育开始讨论。不是所有的昆虫发育都像果蝇一样(参见 12.2)。某些脊椎动物(哺乳动物、两栖动物和鸟类)的发育将在昆虫中发现的启发下进行讨论。个体发育遗传方面的知识扩展了我们对胚胎学的了解。遗传学和经典胚胎学的结合与这一领域早期的观点形成了强烈的对照。美国经典胚胎学和遗传学的先驱之一 Thomas Hunt Morgan,在

其 1926 年的著作《基因的理论》(The Theory of the Gene)明确区分了这两个领域："遗传学解决基因的传递，胚胎学研究潜力到成熟结构的发育。"现在，对遗传学和胚胎学的理解是紧密相联的。

昆虫的发育(果蝇)

12.1　简述果蝇从卵母细胞到成虫的发育。

当未受精卵或称**卵母细胞**(oocyte)在雌性体内被精子受精，果蝇就开始了它的发育。卵母细胞是在构成卵巢的**卵泡**(egg chamber)中产生的。雌性孵化的**受精卵**(egg)只有 0.5mm 长。受精后孵化 24 小时，卵中的胚发育成**幼虫**(larva)。幼虫首要的是吸收营养生长。其生长时 4 天两次蜕去外皮。两次蜕皮中间的幼虫阶段称作**龄期**(instar)。受精大约 5 天之后，三龄幼虫离开食物，将自身附着在一个干燥的表面，经历的变化称为**蛹化**(pupation)。幼虫和它的硬外壳就是所谓的**蛹**(pupa)。蛹内的幼虫经历一个为期 4 天以上的变态。蛹化期间称作**成虫盘**(imaginal disc)的细胞囊继续头部、眼、附件(触角、腿、翅、平衡棒)、消化道、外骨骼(未标示)和外生殖器最后的发育(图 12-1)。注意，幼虫中部的两侧与大多数成熟结构对应的成虫盘成对出现。一个例外是发育成外生殖器的成虫盘只有一个在中线上。大约受精 9 天后，一个成熟的果蝇或称成虫(imago)从蛹壳中出现。成虫可以存活几周。它在种群延续中的主要功能是和另一性别的个体交配。

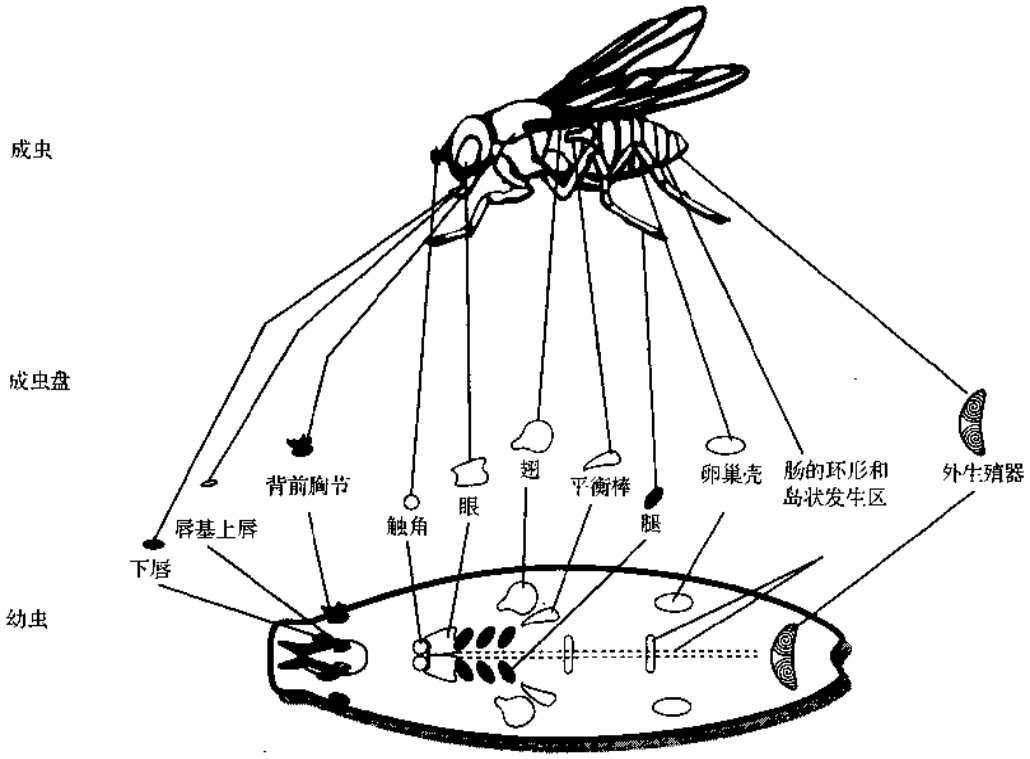


图 12-1　在一只果蝇幼虫中成虫盘的定位。昆虫幼虫中发现的成虫盘是细胞囊，将发育成和成熟昆虫相联系的结构。每个成虫盘在早期胚发育过程中依赖于它的定位被确定，从而变成一个专门的成虫结构(例如 6 个成虫盘，每一个是一条腿)。如果某个成虫盘在实验中被移到了幼虫中的一个新位置，这些细胞将企图发育成在原先老位置已经发育的成熟结构。有些例子中一个单个的成虫盘对应一个成熟的结构(例如生殖器的成虫盘)。

12.2　完全变态的和半变态的昆虫之间有什么区别?

诸如果蝇、蛾、胡蜂、蜜蜂和甲虫是**完全变态昆虫**(holometabolous insect)，即其所有的部分大约同时发育。当胚还是一个单个细胞时，最终生物所有的部分就出现在合胞体的囊胚层

中(将在 12.4 中讨论)。胚最终孵化时它们便进食、生长并蜕皮成毛虫形状的生物(幼虫)。幼虫在其发育出的硬外壳里发育成为成虫。

蚱蜢、蝗虫和蟑螂是半变态的昆虫(hemimetabolous insect):它们胚是通过节段依次添加到后端发育而成的。这些昆虫可以由合胞体囊胚层的后半部发育成完整的胚。半变态昆虫没有蛹或像毛虫的阶段,在胚形成的时候直接发育成表面上像成虫的生物(**动蛹**,nymphs)。这些动蛹进食并直到变成成虫要多次蜕去外骨骼。

12.3 果蝇的卵母细胞是如何发育并有极性的?

果蝇单倍的(单倍体)卵母细胞是由果蝇管状卵巢中的一个双倍体**精细胞**(germ cell)发育而成的。该精细胞通过有丝分裂变成 16 个子细胞,其中一个通过减数分裂变为单倍体卵母细胞。剩下的 15 个细胞分化成带有多线染色体的多倍体**抚育细胞**(nurse cell)。围绕在卵母细胞后面的双倍体**滤泡细胞**(follicle cell)的起源还不清楚(图 12-2)。卵母细胞的发育需要大约 12 个小时。

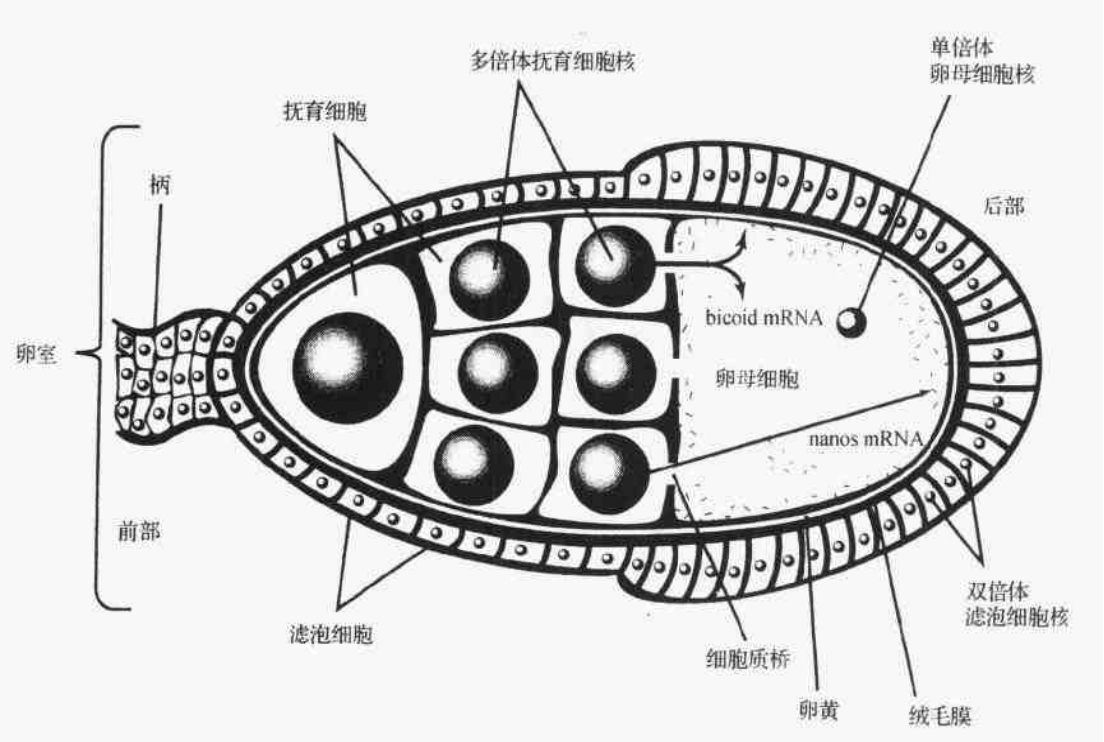


图 12-2 果蝇卵巢中一个单个卵室。果蝇卵巢这一部分中的幼体细胞分裂(通过有丝分裂),产生 16 个细胞(1→2→4→8→16)。其中 15 个分化成带有增大的细胞核的多线染色体抚育细胞(只显示了 7 个);另一个通过减数分裂变成双倍体卵母细胞。减数分裂只产生了一个完全的卵母细胞。减数分裂的其他产物是小而退化的。抚育细胞和卵母细胞被双倍体的滤泡细胞包围。与卵母细胞的前部接触的抚育细胞向卵母细胞提供胚早期发育十分重要的母体 mRNA。这些 mRNA 提供抚育细胞和卵母细胞之间的细胞质联接扩散。卵母细胞由卵巢的这一部分释放并由精子穿透其前部区域被受精。

卵母细胞是被称作**卵黄的**(vitelline)胞外蛋白质和**绒毛膜**(chorionic membrane)覆盖的。围绕在卵母细胞周围的抚育细胞和滤泡细胞参与了卵母细胞和未受精卵周围卵黄中**极性**(polarity,前后轴和腹背轴)的建立。

卵母细胞通过位于其前端细胞质的联接获得由抚育细胞分泌的信使 RNA(mRNA)。由于这些 mRNA 专门来自于雌性,所以称作**母体 mRNA**(maternal mRNA)。它们编码**母体蛋白质**(maternal protein)。有些母体 mRNA 通过卵母细胞的细胞质转运至卵母细胞的后部区域,而另一些则限制在前区(图 12-2)。这就起始了前后轴的发育。

例 12.2

蛋白质 bicoid 的 mRNA 在卵母细胞的前部被发现，而**蛋白质 nanos**(nanos)则附着于卵的后部。biboid 和 nanos 的 mRNA 直到受精才被转译。但其他母体 mRNA 中有一些在受精前表达而且随后首先在卵母细胞中建立前后轴。

抚育细胞也分泌其他的 mRNA，有些编码受精后胚建立腹背轴所需的蛋白质。另外，滤泡细胞分泌大量建立腹背轴所需的蛋白质进入腹部的卵黄。极部的抚育细胞和滤泡细胞还分泌其他因子进入卵黄。这些因子是末端细裂片发育成头或尾所需要的。

12.4　卵母细胞受精时发生了什么重要的遗传事件?

一个精细胞通过穿透卵母细胞的前部使其受精。单倍体核(卵母细胞和精细胞的)融合之后刺激新的双倍体核迅速增殖的特定基因表达。与此同时，阻止母体 bicoid 和 nanos 转译的阻抑物失活。蛋白质 bicoid 和 nanos 分别在卵(受精的卵母细胞)的前部和后部产生，将卵分成两个区。bicoid 和 nanos 影响在其作用区域中核的转录。

bicoid 活化新基因(此前非活化的基因)的表达，抑制卵前部 nanos 的 mRNA 表达，而 nanos 也活化新基因并抑制卵后部 bicoid mRNA 表达。

在 1.5 小时时期，细胞核在细胞分裂之前增生。这使得卵成为了**合胞体囊胚层**(syncytial blastoderm)，即一个卵含有多个核。**合胞体**(synctium)是含有多个核，在其他生物中负责许多细胞分裂的细胞。**囊胚层**(blastoderm)是受精卵的一部分，胚胎的多种组织起源于此。由于核增殖的时间只有 10 分钟，所以在 1.5 小时内积累了 500 个以上的核(图 12-3a)。

12.5　合胞体囊胚层发生了哪些变化?

大约受精后 80 分钟，大多数核(大约 256 个)开始移入细胞的**皮层**(cotex，细胞质的外层)，紧邻细胞质膜的下面。细胞核在移入皮层时还在继续复制。3 或 4 个囊胚层后端的核进入细胞在细胞质膜表面形成并变为**极细胞**(pole cell)。极细胞提供成虫未来的**精细胞**(germ cell)(精子和卵母细胞)。

随着极细胞的形成，皮层中大多数剩余的细胞核(大约 380)分成 4 份，进入细胞在细胞质膜表面形成。这些细胞形成致密的一层，即**外胚层**(exoderm)，包围在剩余的卵细胞质和细胞核周围。这一结构称为**细胞囊胚层**(celluar blastoderm)，由大约 6000 个细胞构成(图 12-3b)。卵的中心含有少数核，称为**卵黄**(yolk)。

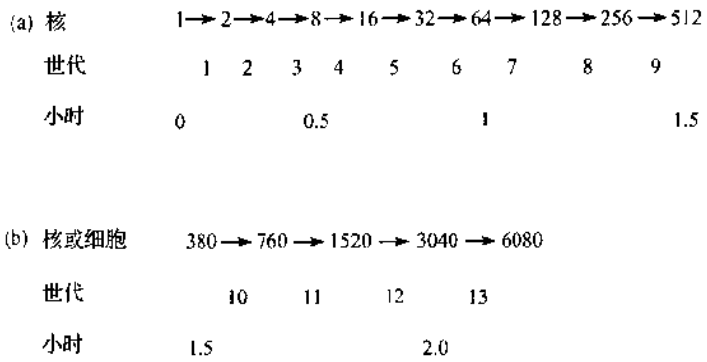


图 12-3　果蝇合胞体囊胚层细胞核的增生。(a)合胞体囊胚层中细胞核指数增加的数目。假设同步生长和分裂，9 代之后产生 512 个核。由于每代只要 10 分钟，所以 90 分钟就可以产生 512 个核。(b)当其继续增生时，512 个中有大约 380 个核移向细胞膜。一个多小时之后，6000 个以上与胞质膜相联的核被细胞膜包裹。这导致了一个 6000 的细胞的囊胚层。

12.6 细胞囊胚层是高度割裂的结构。什么遗传事件导致了细胞囊胚层发育之前的割裂?

细胞囊胚层发育之前,合胞体囊胚层变成割裂的,经历最终的发育建立了腹背轴。细胞囊胚层发育之前的割裂是由基因家族的序位控制的(表 12.1)。

表 12.1 控制果蝇中割裂发育的基因

家族	基因名称(简称)
Materna 基因	*bicoid*(*bcd*),*nanos*(*nos*)
Gap 基因	*hunchback*(*hb*),*kruppel*(*kr*),*knirps*(*kni*),*giant*(*gut*)
Pair-rule 基因	*runt*(*rnt*),*hairy*(*hry*),*even-skipped*(*eve*),*fushi tarazu*(*ftz*)
Terminal 基因	*huckebein*(*hkbn*),*tailless*(*tll*)
Homeotic 基因	*labrum*(*lab*),*deformed*(*d fd*),*sex combs reduced*(*scr*),*antennapedia*(*anp*),*ultrabithorax*(*ubx*),*abdominal-A*(*abd-A*),*abdominal-B*(*abd-B*),*caudal*(*cau*)
Segment polarity 基因	*engrailed*(*eng*),*patched*(*ptc*),*wingless*(*wgl*)

例 12.3

Maternal* 基因**是由卵室细胞表达的基因,涉及到卵母细胞和合胞体囊胚层非常早期的发育。Gap*(缺口)基因**之所以如此称呼是由于大多数在这些基因中的突变大片段的缺失。***Pair-rule* 基因**之所以这样称呼是由于从前到后每一对裂片都表达两个基因之一。***Segment polarity* 基因**是介于其从裂片后部基因分化前部基因的特征而被定义的。***Homeotic* 基因**基于其引起一个裂片与相邻裂片的差异而被定义。

在细胞囊胚层形成之前的割裂中,母体基因产生 biciod 和 nanos,启动 *gap* 基因。然后 *gap* 基因调节 *pair-rule* 基因的表达。这期间胚胎开始经历最终的发育。甚至于 *homeotic* 基因也是在合胞体囊胚层发育的末尾阶段由 *pair-rule* 基因产物启动的。割裂极性基因由 *pair-rule* 基因和 *gap* 基因活化,但裂片极性基因的转译要被延迟到细胞囊胚层形成之后才进行。

12.7 细胞囊胚层什么时候进行原肠胚形成的?这一过程具体是怎样的?

受精之后大约 3.5 小时,细胞囊胚层前部、腹部和后部区域的外胚层开始内陷。称为**头沟**(cephalic furrow)前部区域的环状凹陷使头部和身体其余的部分区分开。头后面腹部内陷的细胞沿着身体的长轴形成**腹沟**(ventral furrow)。腹部外胚层内陷的细胞产生另外两个原始的精细胞层:内胚层和中胚层。新形成的内胚层确定肠道。肠道的形成和三个原始精细胞层的形成就是所谓的**原肠胚形成**(gastrulation)。由中胚层发育成的细胞形成肌肉和血管之类的结缔组织。

12.8 什么是神经胚形成?它发生在什么时候?

Drosophila 中的**神经胚形成**(neurulation)是第一条腹神经的发育,起源于外胚层细胞,在肠道形成细胞发育之后进行。神经胚形成以神经原外胚层的形式开始,神经原外胚层由一串细胞(**神经胚带**,neural germ band)构成,在腹部的外胚层下。神经原细胞再生和分化各种神经和神经胶质细胞,神经胶质细胞将形成昆虫的腹部神经索。

12.9 割裂基因及其蛋白质有哪些特点?

许多割裂基因,确切地说是它们编码的蛋白质,通过在其影响范围之内限制基因的表达建

立了节段。大多数情况下，节段诱导的蛋白质与 DNA 结合并且调节转录。这些 DNA 结合的蛋白质依据结合 DNA 的蛋白区域至少分成 4 组(表 12.2，同时参见第 3 章，表 3.3)。

表 12.2　果蝇中发现的 DNA 结合蛋白家族

蛋白质家族	举例*	功能
螺旋-转角-螺旋**	Bicoid(Bcd)	头部发育
	Nanos(Nos)	尾部发育
	Gooseberry(Gb)	节段极性发育
	Even-skipped(Eve)	奇数副节段发育***
	Fushi tarazu(Ftz)	偶数副节段发育
	Hairy(Hry)	副节段和神经发育
	Engrailed(Eng)	极性化节段
	Labrum(Lab)	节段的分化
	Deformed(Dfd)	节段的分化
	Sex Combs Reduced(Scr)	节段的分化
	Antennapedia(Antp)	节段的分化
	Ultrabithorax(Ubx)	节段的分化
	Abdominal(Abd)	节段的分化
	Twist(Tws)	腹部和精细胞层的发育
	Achaete-scute	神经发生
	Daughter-less(Dl)	神经和性别的分化
螺旋-锌指	Huckebein(Hkb)	头和尾部节段的发育
	Tailless(Tll)	头和尾部节段的发育
	Hunchback(Hb)	前部节段的发育
	Kruppel(Kr)	中部节段的发育
	Knirps(Kni)	中部节段的发育
	Ecdysone(Ecd) receptor	蜕化和变形所需
螺旋和亮氨酸拉链	Giant(Gt or Gnt)	头部和尾部发育
β 带	Runt(Rnt)?	副节段和神经的发育?

* 括号中是其蛋白质简称。

** 与螺旋-环-螺旋同源异型域一样。

*** 化学上以 *pair-rule* 基因产物 Eve 和 Ftz 的出现来定义副节段。一个副节段的后部和下一个副节段的前部形成成虫的节段。节段大致是由 *pair-rule* 产物 Hry 和 Rnt 来确定的。

最大的一组 DNA 结合蛋白的氨基酸序列折叠成螺旋-转角-螺旋(HTH 域)。蛋白质的 HTH 域使其能够结合 DNA。基因中编码 HTH 域的部分已知叫做**同源异型框**(homeobox)。同源异型框由定位在基因末尾附近的 180 个碱基对构成。带有同源异型框的基因由于这些基因分化成为成虫中同源的节段，所以称为**同源异型基因**(homeotic gene)。成虫中改变或破坏同源异型基因的突变，一般导致将非同源节段转换成接近的同源节段。同源异型基因的产物称为**同源异型蛋白质**(homeotic protein)。蛋白质与 DNA 结合以及被同源异型框特化的部分称为**同源异型域**(homeodomain)。

例 12.4

ultabithorax 基因中的联合突变(*abx*、*bx* 和 *pbx*)使得胸段 T3 转变成为和前一节段相类似的 T2 节段。这一结果使得果蝇变成两对翅膀而不是一对翅膀一对平衡器(图 12-4a)。因此，该同源异型基因在同源节段分化成非同源节段中是很重要的。*ultabithorax* 基因中的单个突变(bxd)转变胸副体节成为和前一副体节(副体节在例 12.7 之后定义)类似的结构。这使得只有半个节段类似前半个节段(图 12-4b)。

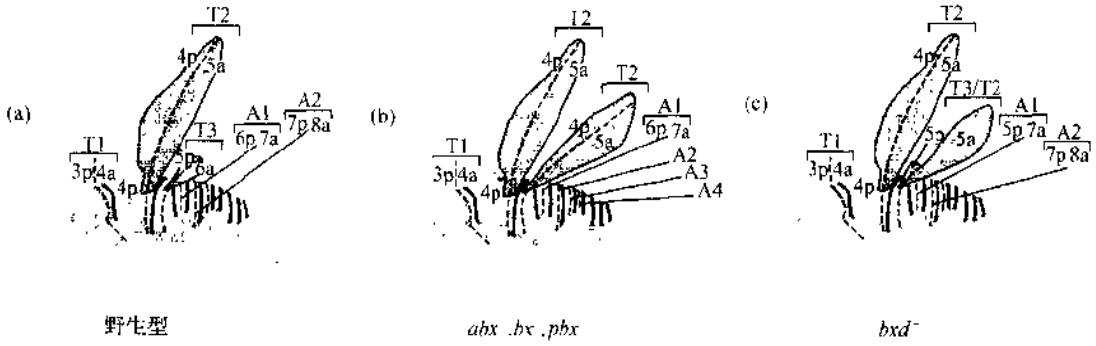


图 12-4　同源异型基因中的突变影响成虫盘的发育。(a)野生型果蝇。T=胸节段;A=腹节段;p=后副节段;a=前副节段;(b)这一果蝇在 *ultrabithorax*(*ubx*)基因的控制位点有三次突变(*abx*、*bx*、*pbx*)。由于这些突变,*ubx* 基因在副节段 5 和 6 的表达不同,使得翅膀的发育不再被抑制。随后,涉及副节段 5 和 6 的成虫盘发育成翅膀而不是平衡棒;(c)该果蝇在 *ultrabithorax*(*ubx*)基因的控制位点有单一的突变(*bxd*)。由于这一突变,副节段 6 中 *ubx* 基因的表达发生了变化。在这一例子中,平衡棒的前部仍然按程序产生平衡棒,而后部不产生。因此由成虫盘的后部形成一小翅膀。

带有表现一个以上节段所必需的同源异型框非同源异型基因的发现,例如 *bicoid*,表明同源异型基因不能简单的定义为那些含有同源异型框的基因。

表现出一个以上节段所需的基因,与从一个节段分化成另一个节段的基因不同,它们不是真正的同源异型基因。

☞例 12.5

含有螺旋-锌指结构域的 gap 基因 hunchback(hb)和 kruppel(kr)的突变使得大量节段丢失,而不是像同源异型基因那样将一个节段转换为另一个节段。

注意:在下面的讨论中,只有节段的最后分化和成虫结构所必须的基因将被认为是同源异型基因。在教科书和研究报告中同源异型基因也是这样讨论的。

第二组 DNA 结合蛋白有一个或多个 α 螺旋,氨基酸与锌离子结合。这些结构域允许蛋白质和 DNA 结合,被看作是螺旋和锌指(表 12.2)。*hunchback*(*hb*)和 *kruppel*(*kr*)是果蝇 *gap* 基因,已报道含有锌指结构。大多数类固醇激素受体有一个或多个螺旋和锌指。果蝇类固醇激素**蜕皮激素**(ecdysone)的受体就是一个螺旋-锌指蛋白质。蜕皮激素刺激蛹化和变形。

另一组 DNA 结合蛋白有针对 DNA 的大沟的单一折叠螺旋结构域。通常,这些蛋白质以二聚体的形式发挥功能。这些二聚体通过每一亚基中含有的多个亮氨酸二级结构域结合在一起。这些维系调控蛋白结合的二级结构域称为螺旋-亮氨酸拉链(表 12.2)。果蝇 *gap* 基因中的 *giant* 就属于螺旋-亮氨酸拉链家族。

第四组 DNA 结合蛋白含有 β 带结构,使得它们能够结合 DNA(表 12.2)。果蝇基因 *runt*(*rnt*)负责副节段和神经的发育,就是 β 带家族的成员。

12.10　节段基因有哪些不同种类?它们的突变对胚胎有什么影响?

节段的发育依赖于基因序位在发育中的果蝇胚胎不同时间和不同区域的表达。控制节段化的基因序位可分为 6 个家族:母体(*maternal*)基因、缺口(*gap*)基因、终止(*terminal*)基因、匹配规则(*pair-rule*)基因、同源异型(*homeotic*)基因和节段极性化(*segment polarity*)基因(表 12.1)。

母体基因通常由于 mRNA 在卵母细胞发育过程中已退化,所以最初的表达只来自于雌性

的转录。母体基因的产物将受精卵的长轴分成两半。失去母体基因产物导致胚胎总体上的不同。

☞例 12.6

在前部失去 bicoid 导致头和前部节段的缺失，失去 nanos 则引起胚胎严重变短以及不正常的尾。

缺口基因通常在受精之后活化。母本和父本的基因提供被转译的基因。缺口基因的产物沿着胚胎的长轴将合胞体囊胚层至少分成 7 个区域。缺口基因之所以这么命名是由于它们中任何的突变都将导致很多同源片段的缺失以及存活胚胎严重的变短。

☞例 12.7

在 kruppel 中的某些突变导致 3 个胸节段以及 5 个腹节段(T1、T2、T3、A1、A2、A3、A4、A5)的缺失。

匹配规则基因由缺口基因活化和抑制。由缺口基因确定的区域交替表达匹配规则基因。发育过程中的这时候，胚胎已被沿着长轴至少分成了 14 个称为**副节段**(parasegment，PS；图 12-5)的区域。匹配规则基因之所以如此命名是由于它们成对出现发挥作用，将由缺口基因确定的 7 个区域转换为 14 个副节段，*even-skipped* 和 *fushi tarazu* 基因的表达交替进行。在

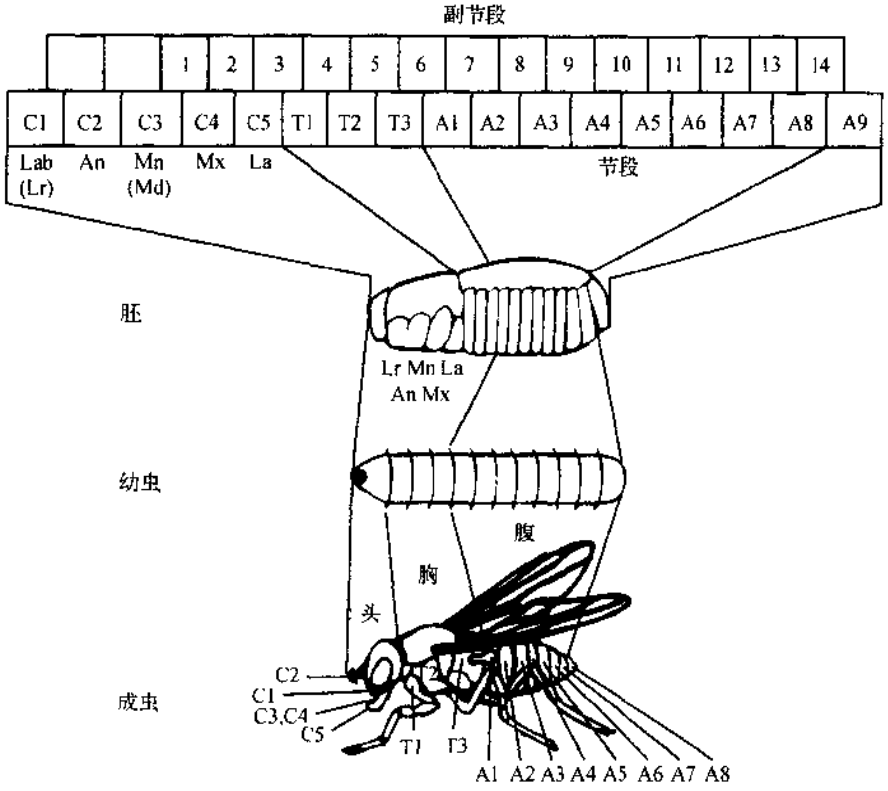


图 12-5　副节段和节段在果蝇胚胎、幼虫和成虫中的定位。胚胎中有 5 个头节段(C1、C2、C3、C4、C5)、3 个胸节段(T1、T2、T3)和 9 个腹节段(A1～A9)。头节段与头部结构相关联：C1＝上唇(Lab 或 Lr)，C2＝触角(An)，C3＝大颚(Mn 或 Md)，C4＝下颚(Mx)，C5＝下唇(La)。副节段是由匹配规则基因产物确定的，编号 1～14。因为节段也由终止基因和进行化基因确定，所以除了副节段还有其他节段。对于大多数节段，一个副节段的后部和下一个副节段的前部构成了一个节段。

匹配规则基因中的突变导致7个副节段的丢失。

☞例 12.8

fushi tarazu(日语中的意思是"不完全节段")基因中的突变导致所有偶数副节段(PS2、4、6、8、10、12、14)的缺失。存活的胚胎只有正常胚胎的一半大;并失去头(PS2)、胸(PS4)和腹(PS6、8、10、12)的副节段。

终止基因由卵黄中的蛋白质因子活化。同一种终止基因的产物与母体基因,缺口基因和匹配规则基因的产物联合,影响头和尾的发育。

同源异型基因被认为是由母体、缺口和匹配规则基因的产物活化的。同源异型基因的产物对于成虫盘发育成成虫结构是必需的。它们还确定幼虫和成虫的**节段**(segment,图 12-5)。节段是由副节段的后部和相邻副节段的前部构成的。

☞例 12.9

maxillary(Mx)节段由副节段1的后部和副节段2的前部构成的(图 12-5)。尽管同源异型基因参与了成虫结构的形成,但最初它们是在合胞体囊胚层中表达的。

节段极性化基因由母体、缺口和匹配规则基因的产物活化。节段极性化基因的产物进一步又分为14个有极性的副节段。它们在细胞囊胚层形成之后立刻建立了每一个副节段的前、中和后区。

12.11 一个基因序位参与了果蝇节段化。这些基因是如何发挥作用的?

在卵母细胞期间,抚育细胞产生蛋白质 bicoid(Bcd)和 nanos(Nos)的 mRNA。bicoid 的 mRNA 在卵母细胞的前部缺失,而 nanos 的 mRNA 被转运到卵母细胞并被限制在其后部。当受精时,阻止转录的抑制因子减少,bicoid 和 nanos 的 mRNA 被转译。bicoid 和 nanos 可以活化自身转录(Bcd→Bcd 和 Nos→Nos),但彼此之间互相抑制(Bcd⊣Nos)。因此,bicoid 被限制在前部,nanos 保持在发育中的合胞体囊胚层的后部(图 12-6)。

在合胞体囊胚层前部高浓度的 biciod 活化特定的缺口基因(*giant* 和 *hunchback*),而在后部高浓度的 nanos 活化其他缺口基因(*knirps* 和 *giant*)。高浓度的 biciod 和 nanos 被认为是限制 kruppel 的产物进入胚胎的中心区域,而中低浓度则促进它的产生。母体基因还发挥了转录和/或转译抑制剂的作用。

☞例 12.10

nanos 阻断 *hunchback* 转录的翻译(图 12-6)。这就限制了 hunchback 进入发育中胚的前部。

缺口基因的产物(Gnt、Hb、Kr、Kni)也发挥了转录活化子和抑制子的功能。

☞例 12.11

hunchback 的梯度影响 *kruppel*,*knirps* 和 *giant* 的表达。高浓度的蛋白质 hunchback 抑制 *kruppel* 基因的表达(Hb⊣*kr*),中浓度活化 *kruppel*(Hb→*kr*),而低浓度又抑制。中浓度蛋白质 hunchback 强烈抑制基因 *knirps*(Hb⊣*kni*),但刺激基因 *giant*(Hb→*gnt*)。*kruppel* 和 *giant* 的产物彼此之间相互抑制(Kr⊣Gnt)。

这些相互作用(当然还有其他一些)导致蛋白质 Kr、Kni 和 Gnt 被限制在合胞体囊胚层前部和后部分隔的区域。

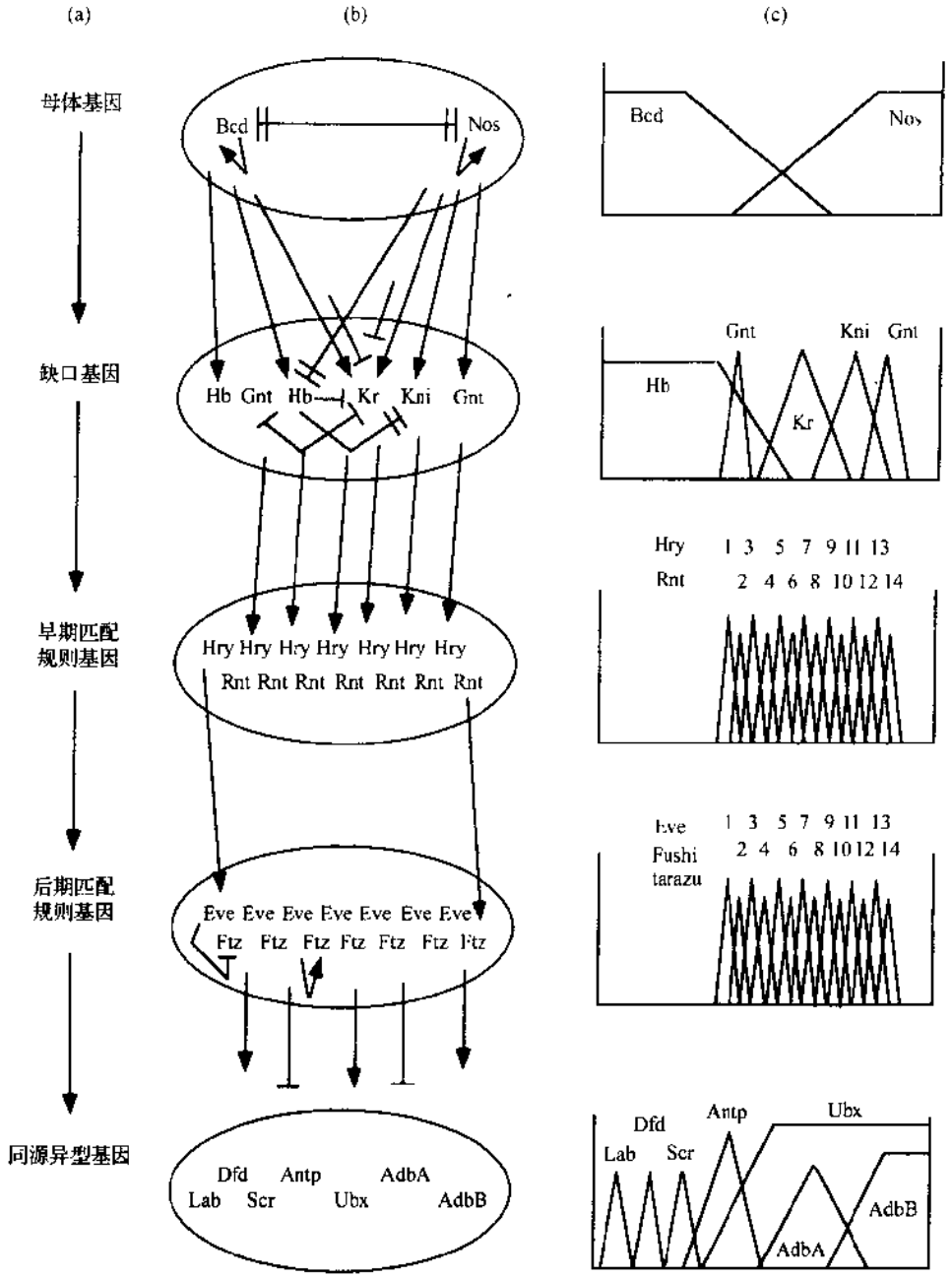


图 12-6　果蝇合胞体囊胚层和细胞囊胚层中控制节段化的基因序位。(a)基因的序位:母体基因调节缺口基因,缺口基因调节匹配规则基因,按顺序它调节同源异型基因;(b)箭头表示各种基因产物如何调节基因活性并将基因产物限制在沿前后轴确定的区带。基因活化或蛋白质合成由尖箭头表示(→);基因的抑制由钝箭头表示(⊣)。双箭头表示强烈活化或抑制(↠或⊣⊣)。在某些情况下低浓度的蛋白质活化基因表达,而高浓度则抑制。这种情况从 Bcd 到 Kr 由两个不同的箭头(→,⊣)表示。蛋白质的符号和名称见表 12.2;(c)沿着囊胚层长轴的蛋白质梯度显示了基因是如何表达以及基因产物的限制。Bcd 和 Nos 的梯度占据囊胚层各一半。Gnt、Kr 和 Kni 的梯度在囊胚层的后 2/3 被发现。Hry 和 Rnt 交替在囊胚层的后 2/3。这 14 条带大致与形成成虫的节段相对应。Eve 和 Ftz 的 14 条带在囊胚层后 2/3 交替。这些条带确定副节段。

据认为,高浓度的缺口基因产物,以及终止基因产物 tailess(Tll)和 huckebein(Hkb),发挥了转录活化子和抑制子的作用。值得注意的是 Tll 和 Gnt 在正在发育的生物两端都有发现。高浓度的终止基因和缺口基因产物(Tll、IIb、Gnt、IIb、Kr、Kni、Gnt 和 Tll),分别沿着前

后轴，活化匹配规则基因 *hairy*(*hry*)，而中浓度活化匹配规则基因 *runt*(*rnt*)。这将导致含有 hairy 的 7 条带与含有 runt 的 7 带交替(图 12-6)。交替带中 hairy 和 runt 沿着胚的长轴可被检测。

缺口基因和匹配规则基因的产物以非常复杂的方式合作活化或抑制第二组匹配规则基因 *even-skipped*(*eve*)和 *fushi tarazu*(*ftz*)。比如，Rnt 活化 *eve*，而 Kr 和 Hry 抑制 *eve* 但活化 *ftz*。在大多数情况下，高水平的缺口基因产物活化 *ftz*，而低或中水平的缺口基因产物是活化 *eve* 所必需的。副节段通过匹配规则基因 *eve* 和 *ftz* 的表达确定，而节段大致通过匹配规则基因 *hry* 和 *rut* 的表达确定。据认为同源异型基因的表达是在合胞体囊胚层晚期起始。至今关于同源异型基因的控制位点没有任何信息。它们的表达依赖于母体、缺口和匹配规则基因的产物。

匹配规则基因 *even-skipped* 和 *fushi tarazu* 以非常复杂的方式刺激大量节段极性化基因。其结果是前部或后部每一副节段中 *engrailed*、*patched* 和 *wingless* 的活化。结合母体基因、匹配规则基因和偶数同源异型基因的表达，囊胚层表面的渗入到细胞内。很清楚，合胞体囊胚层在其变成细胞囊胚层表达节段化基因序位。在每个副节段的发育早期，从前到后，存在着表达为条纹的一个细胞，表达为斑点的两个细胞，以及表达为无翼的一个细胞。

虽然表达为条纹的是与一个 DNA 结合蛋白有关，但人们认为表达为斑点的和无翼的可能与外在的信号功能有关。因此，复杂的信号传导途径是保持节段和副节段极性所必需的。

12.12 同源异型基因的表达是在发育的哪一阶段?

尽管同源异型基因被认为调节成虫盘发育成成虫的结构并保证了成虫表现的阶段，但大多数同源异型基因在果蝇 10 小时胚胎时显示已被表达(图 12-7)。据推测母体、缺口和匹配规则基因在早得多的时候就至少参与活化和抑制某些同源异型基因，在细胞囊胚层形成的时候即受精后 2.5～3.0 小时。这样认为的一个原因是蛋白质 Hb 强烈抑制基因 abd-A 和 abd-B。另外，Hb 较弱的抑制基因 *ultrabithorax*(*ubx*)，该基因影响胸和某些腹节段的发育。而且，Hb 的增加引起某些腹节段发育成胸节段。

12.13 有多少同源异型基因? 它们都在哪里表达? 怎样表达?

果蝇中 3 号染色体的同源异型基因已有图谱(图 12-7)，同源异型基因中大量位点已被作图：端粒——abdB〔iab8、iab6、iab5〕、abdA〔iab4、iab3、iab2〕、*ubx*〔pbx、bxd、bx、abx〕、*antp*、(*ftz*)、*scr*、*dfd*、(*zen*)、*pb*、*lab*——着丝粒。对于非同源异型基因 *ftz*(*fushi tarazu*)和 *zen*(*zerknullt*)，*ftz* 负责前后轴的形成，而 *zen* 是腹背轴发育所需要的。曾经认为 *abd-B*、*abd-A* 和 *ubx* 中的位点表示不同基因。比如，*abd-B* 位点的基因产生 4 种产物：下腹——8、7、6 和 5。现在关于这些复合区域编码的蛋白质数目不太确定。最新的模式暗示，每一个区域只有一个基因产物，但其在每一节段中的浓度在决定节段的特征时很重要。似乎是确定不同基因的突变影响控制位点和表达水平。图 12-7a 表示了在果蝇胚 10 小时时每一位置各个基因的表达程度。

每一个同源异型基因(不包括 *pb*)对于一个或多个胚节段的适当发育是必要的。在许多情况下，同源异型基因的缺失会引起节段(或副节段)发育成和前一节段类似第四节段。

☞例 12.12

可改变 *ultrabithorax* 基因产物(Bxd)水平的突变导致腹节段 A1 的前部转换成为胸节段 T3 的前部。其结果是果蝇带有一个扩大的紊乱的平衡棒(图 12-4b)。

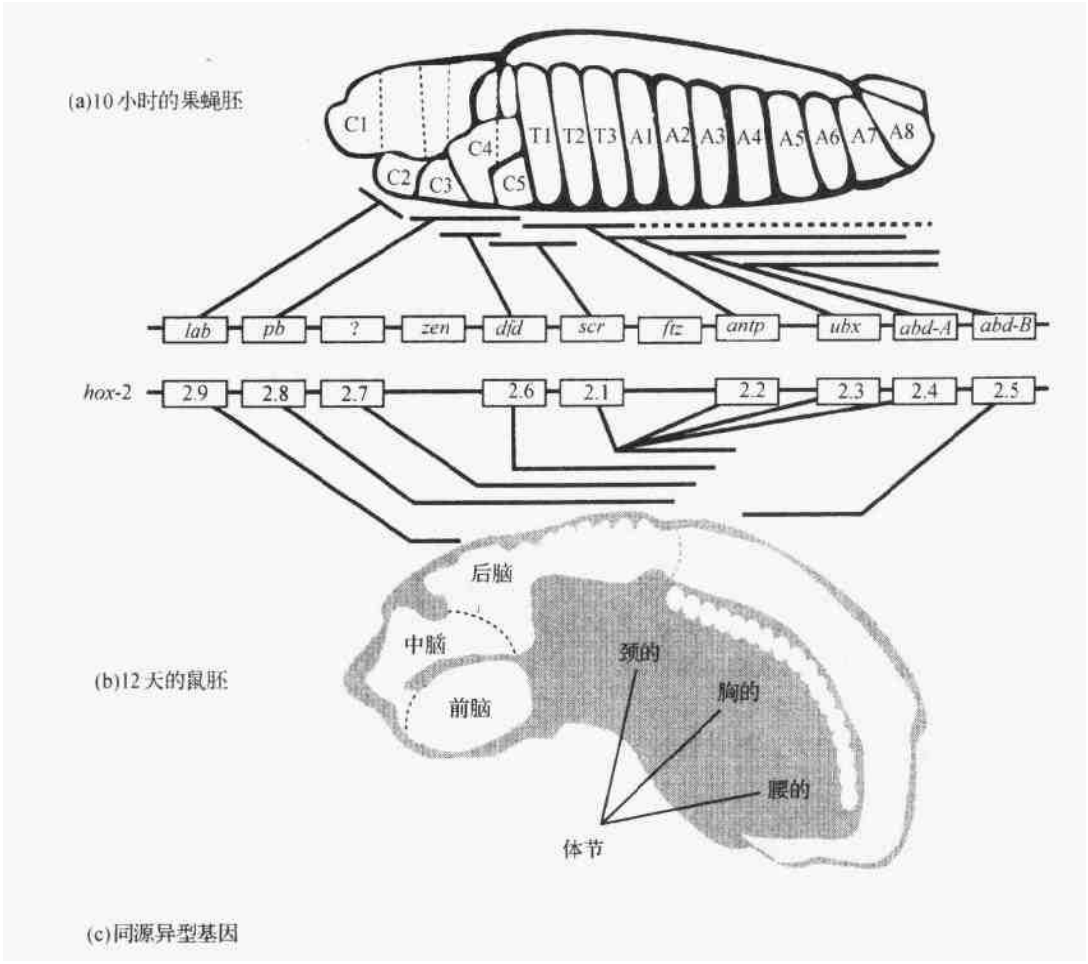


图 12-7　同源异型基因沿前后轴表达的全景。(a)果蝇胚 10 小时时同源异型基因表达的全景和同源异型基因产物(由沿着胚长方向的实线表示)的限制性出现的示意图。虚线表示同源异型基因产物在稍后的时候或低浓度时的位置。前后轴是从左到右。3 号染色体上同源异型基因的顺序就如图所示：*lab*=*labrum*；*pb*=*proboscis*；*dfd*=*deformed*；*scr*=*sex combs reduced*；*antp*=*antennapedia*；*ubx*=*ultrabithorax*；*abd-A*=*abdominal-A*；*abd-B*=*abdominal-B*。显示在果蝇 3 号染色体上的基因 *zerknullt*(*zen*)和 *fushi tatrzu*(*ftz*)不是同源异型基因。*zerknullt* 控制腹背轴发育，其产物在背部组织中发现。(b)鼠胚 12 天时同源异型基因表达和同源异型基因产物的限制性出现。类似于果蝇同源异型基因的鼠 *hox* 基因作为比较。果蝇的同源异型基因控制沿着整个前后轴节段的发育。相比之下，类似的 *hox* 基因则被限制在含有后脑的头部和包括颈区的身体一部分。(c)果蝇单个同源异型基因家族与鼠的 4 个同源异型基因家族(*hox*-1、*hox*-2、*hox*-3、*hox*-4)相比。某些情况下，*hox* 基因增殖，控制一般发育(*hox*-4.8、*hox*-4.7、*hox*-4.6、*hox*-4.5、*hox*-4.4)。*hox* 基因不同家族位于不同的染色体上。越是调控较前的区域的 *hox* 基因越是对视黄酸敏感。

ubx 的突变将节段转变成为更前的节段，与此相比，*antennapedia*(*antp*)中特定的突变可

将头部的触角转到腿上，附肢则在更靠后的胸节段上发现。

12.14 怎样的遗传系统指导终止节段发育成头和尾?

尽管头和尾的发育需要很多基因参与节段化，其中一组称为终止基因的基因是头和尾适当发育所需要的。

终止发育依赖于编码一种称为 torso-like 信号肽的母体基因。torso-like 是由在卵母细胞末端的抚育细胞和滤泡细胞释放到卵黄。受精时，卵产生 torso，一种带有酪氨酸激酶活性的膜受体。torso-like 与合胞体囊胚层 torso(受体)结合，只在极上发现。这发送了一个信号给前部和后部附近的核，刺激蛋白质 tailess 和 huckebein 的产生。huckebein 只发现于极端终止细胞，而 tailess 则扩展到了细胞囊胚层。这些终止基因产物以及母体和缺口基因产物指导早期头和尾节段的发育。这是由节段化和终止基因中的突变证实的。

例 12.13

在下列基因中的任何一个发生突变将导致胚胎头部区域的严重破坏：bicoid(母体基因)、kruppel(缺口基因)和 even-skipped(匹配规则基因)。胚胎尾部区域 bicoid、kruppel 和 even-skipped 发生任何突变仍表现正常。

例 12.14

减少 torso 的突变导致尾的完全缺失和某些头部节段的异常。bicoid 和 nanos 的双重突变(bcd^{-} nos^{-} tor^{+})中，幼虫在两端都发育出一个破坏的尾形结构。

这些数据显示，终止基因在节段化基因缺失时产生一个尾形结构。节段化基因和终止基因共同转化前部的尾形结构成为头部，后部的尾形结构成为真正的尾。

12.15 果蝇中腹背轴极性是如何决定的?

腹背的分化起始于卵母细胞的时期。由卵母细胞产生一细胞外信号肽，一旦被释放到卵黄基质就以活性形式和卵黄膜(包围卵母细胞)保持联系。信号肽的活化发生在受精之后，由发育中的合胞体囊胚层释放的丝氨酸-苏氨酸蛋白酶活化。这些蛋白酶将非活性的信号肽转变成称为 toll-ligand(Tl)的蛋白质。toll-ligand 被限制在腹部的卵黄基质，随后只与 toll(T)特化的腹部受体结合。toll 受体是信号转导途径(toll-ligand --> T --> G --> PLC ==> DG --> PKC)的一部分，G＝三聚 GTP 结合蛋白，PLC＝磷脂酶- C，DG＝二乙酰甘油，PKC＝蛋白激酶- C。由于 toll-ligand 专一地和合胞体囊胚层的腹部表面的 toll 结合，所以高浓度的活性 PKC 存在于发育中的胚腹部区域。

活化的 PKC 通过 cactus 磷酸化分隔一个由蛋白质 cactus(Ct)和 dorsal(DI)构成的复合物。一旦释放，dorsal 就扩散进入腹部的核，在那里它活化特定的基因并抑制其他基因。自由 dorsal 区的缺乏导致某些不在腹部表达的基因的表达。这些差别基因表达的后果是腹背轴的建立。

12.16 腹背轴基因的突变在发育中会产生什么影响?

减少背侧蛋白质的突变导致严重破坏，节段性的胚没有腹部组织。完全由背部组织构成，通常与背部区域相联系的基因产物在整个胚中表达。原肠胚形成通常是从腹表面发生，在本应在腹区的基因产物缺失的情况下不发生。

与非活化的背部基因突变相比，那些减少 cactus 蛋白质的突变导致产生一个没有背部组

织而严重破坏的胚，该胚完全的腹部化，只有与腹部区域相关联的基因产物全面被表达。

哺乳动物的发育(人类和小鼠)

12.17　哺乳动物胚胎发育的早期，发生了什么？尤其是和轴决定有关的事件。

没有证据证明哺乳动物的卵巢在卵母细胞中建立了有关前后轴或腹背轴。同样，也没有证据证明受精诱导了卵中的轴。当受精卵沿着输卵管向子宫移动时，它经历了大量的有丝分裂，形成了有关中空的细胞"球"，称为**囊胚泡**(blastocyst)。当**内细胞团**(inner cell mass)在内壁的一小部分上发育时，囊胚泡变成一个极性结构。哪种信号刺激内细胞团的生长还不知道。含有内细胞团的极将自己植在子宫内膜。对于人类，这发生在大约受精后 6 天。植入的简洁方式暗示囊胚泡是高度极性化的，而且内细胞团有一个腹背轴。内细胞团的背表面与囊胚泡的壁相联。两天之内，内细胞团变成**胚盘**(embryonic disc)，最初是由两层细胞组成的。胚盘的背层与囊胚泡壁分开，但胚盘保持通过其周围与囊胚泡壁的联系。尽管胚盘在发育的这一阶段有一个腹背轴，但还没有建立前后轴。

胎盘(placenta)是由囊胚泡壁在母体子宫内膜长出的细胞发育来的。最初，**羊膜囊**(amniotic sac)在胚盘之上发育，**卵黄囊**(yolk sac)在胚盘之下发育。羊膜囊含有托垫胚的液体，卵黄囊不储存卵黄，但血管是在覆盖有卵黄囊的中胚层发育的，该卵黄囊输送营养液。

12.18　在早期人类胚胎中，什么时候建立了前后极性？

人类的胚胎在受精后 13 天仍然由带有两层细胞的胚盘构成。背层是外胚层，而腹层是内胚层。第 14 天，胚胎前部(头)将要形成的地方某些内胚层细胞伸长。第 15 天，胚后部(尾)，从卵黄囊到非胚组织的联接已经发育。因此胚胎的前后轴已经建立。迄今，基因的作用还不知道。生物学家猜测由像果蝇母体基因(*bicoid*、*nanos*)和终止基因(*torso*、*huckebein*、*tailess*)这类的基因参与脊椎动物的发育。

从第 15 到第 18 天胚胎发育其中胚层，背部定位的外胚层细胞在外胚层和内胚层之间移动。外胚层细胞的移动开始于后端，向胚胎的中心进展。外胚层中一个中空的凹陷称为**原肠胚**(primitive steak)，后来变深，形成**原沟**(primitive groove)。原肠胚是移动细胞的起源。原肠胚和原沟向前移动，形成胚胎的前部中胚层。

12.19　脊索和神经管什么时候形成的？

从大约第 16 天开始，人胚胎中心的内胚层凹陷。凹陷的过程是由中心向伸长的胚前部进行。内胚层细胞完全的凹陷产生原沟硬的"棒"，称为**脊索**(notochord)。

与此同时神经管在腹侧向胚的前部发育，中胚层加厚**神经板**(neural plate)的外胚层向上折叠形成**神经褶**(neural fold)，在折叠中间还形成一个**神经沟**(neural groove)。神经沟沿着整个胚的长轴延伸。靠近人类胚中部的神经褶在大约第 21 天开始向背部渗透，这标志着**神经管**的起始。神经板和神经管的形成称作**神经胚**形成(neurulation)，这一时期的胚叫做**神经胚**(neurula)。

12.20　人类的胚是在什么时候变成节段性的？

发育中的脊索和神经管两侧的中胚层也在变化分节成为成对的，称为**体节**(somite)。体节是中胚层的立方体，有副节段的轮廓。33 对体节从 20～28 天发育。与体节同时形成的神经管也分裂成副节段。

12.21　在胚的发育中体节做出了哪些贡献？

脊索和神经管两侧的**轴旁中胚层**(paraxial mesoderm)是配对**体**节的起源，体节使得细胞进入了椎骨、肋骨、联接椎骨的肌肉和皮肤真皮结缔组织的发育。每一体节中低部的细胞(**生**

骨节，sclerotome)向脊索和神经管移动，在那里它们分泌软骨，形成早期的**椎骨**(vertebrae)。软骨和骨确定节段。在胸部区域，椎骨延伸形成早期的肋骨。

在每一对体节中部的细胞(**生肌节**，myotome)发育成为**成肌细胞**(myoblast)。成肌细胞向腹侧扩展，在胚胎的躯干两侧形成肌肉。另外，成肌细胞向背侧扩展产生的肌肉将椎骨联接在一起。这些肌肉确定了胚的副节段。节段性的肌肉使得鱼、两栖动物和爬行动物以曲线的方式向两侧移动它们的脊椎节段。哺乳动物行进主要是通过移动成对的肢体而不是向两侧移动脊椎节段，因此大多数节段性肌肉在个体发育以后的步骤中融合了。在成对体节中的其他各种细胞(**生皮节**，dermatome)是皮肤**真皮**(dermis)和结缔组织的起源。

大量实验暗示，体节在神经管上面发现，促进副节段在神经管和**神经嵴细胞**(neural-crest cell)中的形成。神经嵴细胞随后在每一副节段周围发育为感觉神经。

12.22 人类的消化道是怎样发育的?

22 天大的胚由 3 层细胞(外胚层、中胚层和内胚层)、神经管、脊索和 8 对体节构成，但缺少消化道。消化道的发育起始于胚上面的羊膜腔折叠到胚下面的时候。前端下面的折叠导致**头褶**(head fold)，后端下面的折叠产生**尾褶**(tail fold)。胚胎躯干下面的折叠称为**侧褶**(lateral folding)。甚至于羊膜腔完全的包围胚胎，只除去卵黄囊和进入胚胎的联接柄。卵黄囊和联接柄变成**脐带**(umbilical cord)。消化道的发育和在人类胚胎腹区形成心脏是在 30 天时完成的。将要形成心脏的组织起始于 22 日龄胚胎中胚层组织头的后面。

12.23 关于哺乳动物胚胎的同源异型基因表达已知哪些信息?

哺乳动物中的 4 个同源异型基因家族和果蝇中的同源异型基因相关(图 12-7c)。DNA 分析显示这 4 个同源异型基因家族通过脊椎和无脊椎分开之后的某个时候，在果蝇中发现的类似基因复制参与发育。人类的同源异型基因称为 ***hox* 基因**，每一家族由一个数字表示(由 1 到 4)。鼠的 *hox-1*、*hox-2*、*hox-3* 和 *hox-4* 家族分别在染色体 6、11、15 和 2 号上发现。

果蝇和鼠的同源异型基因在它们参与的几百万年中保持了各自的顺序。另外同源异型基因的顺序与同源异型基因表达处的节段相关。一端的基因(*lab*=*hox-1.6*、*hox-2.9* 和 *hox4.9*)分化成前部节段，另一端的基因(*abd-B*=*hox-1.7*、*hox-2.5*、*hox-3.2* 和 *hox-4.4*)则影响后部的节段。*lab* 附近的基因比 *abd-B* 附近的基因先表达。另外，*lab* 附近的基因对于**视黄酸**(retinoic acid)因子的生长更有作用。

图 12-7 显示了 10 小时果蝇中和 12 天鼠胚胎的同源异型基因有怎样的关联以及它们产物的定位。人类大约 28 天的胚胎与鼠 12 天的胚胎类似。

12.24 哺乳动物中 *hox* 基因是如何参与肢体产生的?

脊椎动物的肢体以和躯干大致相同的方式分节。因此，同源异型基因参与肢体节段的分化就不足为奇了。脊椎动物中有些控制身体分节的 *hox* 基因同样决定肢体的发育。

发育中的肢体有一前后轴和一远近端维度(dimension)(图 12-8)。在非常早期的肢芽中，*hox* 基因是沿着前后轴节段性表达的。肢芽生长时，*hox* 基因的表达发生扭曲，使得 *hox* 基因产物在贯穿肢芽的对角条带中发现。

鼠中有些与果蝇的 *abd-B* 基因(*hox*-4.8、4.7、4.6、4.5 和 4.4)非常相关的基因，在沿着肢体长轴方向的节段中表达。5 个 *hox*-4 基因的表达确定了大多数远端后部节段。只有 *hox*-4.4 的表达确定肢体大多数近端和大多数前部区域(图 12-8a)。

12.25 已知视黄酸影响肢体的发育。视黄酸和 *hox* 基因之间是什么关系?

视黄酸是结合在胞质蛋白受体上的配体。视黄酸受体复合体调节某些 *hox* 基因的转录。这是通过将视黄酸加入到鼠肢芽前区，即只有 *hox*-4.4 表达的位置证明(图 12-8b)。在几

小时之内，所有的 *hox* 基因都在视黄酸浓度最高的前部表达。少数 *hox* 基因在视黄酸浓度低的区域表达。经视黄酸处理的鼠肢芽在前部的发育几乎是后部区的镜像。这一实验暗示，视黄酸或其类似物发育中的肢体在远端区域活化 *hox* 基因的自然生长因子。另外，*hox* 基因由生长因子梯度活化，这导致了肢体的分节。

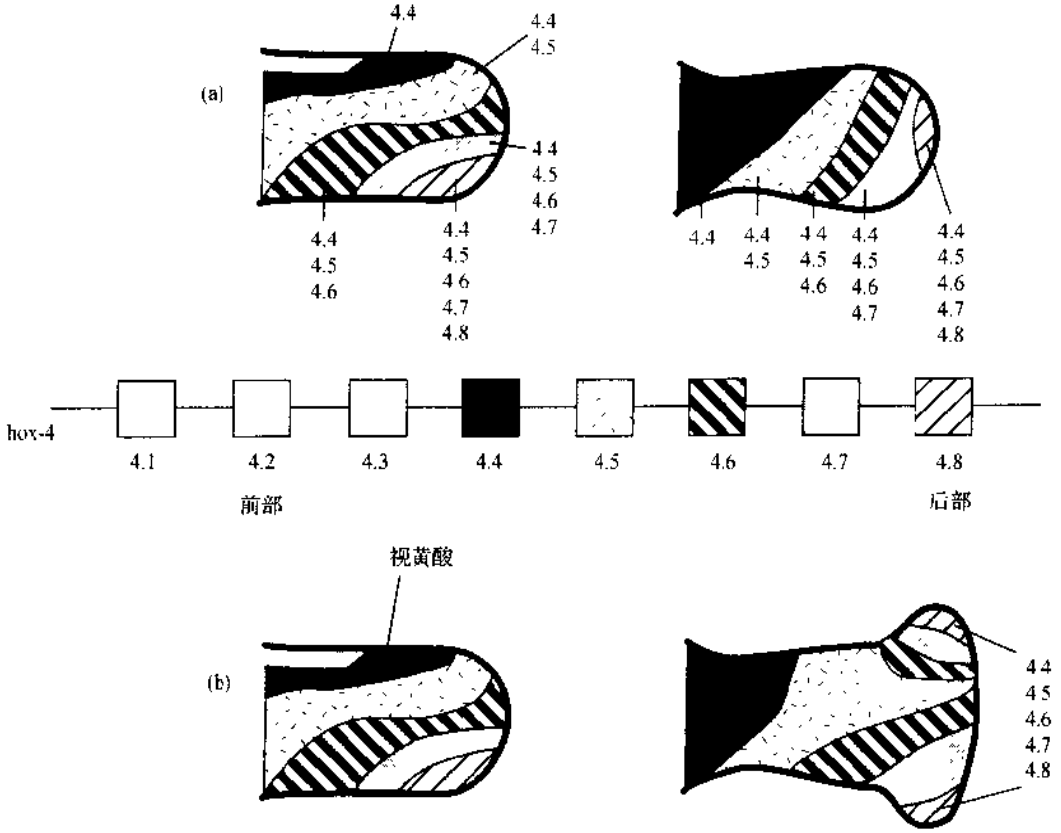


图 12－8　同源异型基因在鼠肢体中的表达范围。(a)发育中小鼠肢体 *hox*－4 基因的表达范围显示，在大多数后部区域发现的基因产物与大多数控制躯体后部区域的基因相关。基因产物 Hox－4.8 被限制在一个躯体最远端肢芽后部较小的区域。基因产物 Hox－4.4 在除了最前端靠近躯体的区域外的大多数肢芽中发现。肢芽伸长时，肢体节段旋转，使其更垂直于远近轴。大多数 *hox*－4 基因在发育中的肢体远端部分表达，可能是由于远端区域将发育指，因此需要更为复杂的操作。(b)*hox*－4 基因通常在发育中的肢体后部区域开启，能够在肢芽前部区域通过视黄酸的诱导不适当的表达。位于生长中的肢芽(左图)最前部近端区域的视黄酸在该区域中诱发 *hox*－4.6、*hox*－4.7 和 *hox*－4.8 基因。通常这些基因只在肢芽的后部区域表达。*hox*－4.6、*hox*－4.7 和 *hox*－4.8 在肢体的前部远端区域不适当的表达(右图)，组织生长。肢体生长的早期，视黄酸完全溶解并被受影响的组织摄取。因此，它就对在肢芽前部近端区形成的新组织没有影响了。其结果是发育成带有额外指(未标示)的畸形足。

两栖动物的发育(光滑爪蟾)

12.26　像光滑爪蟾(*Xenopus laevis*)的两栖动物个体发育是怎样的?

光滑爪蟾卵母细胞(未受精卵)的卵发生期间，建立了一种称作**动物-植物轴**(animal-vegetal axis)的极性(图 12－9a)。在这种生物中，卵母细胞的动物半球是黑色的，含有少量或不含有卵黄；而植物半球带有大量营养丰富的卵黄，是浅颜色的。精子头部对两栖动物卵母细胞的侵入只发生在动物半球。受精后 60 分钟之内，细胞骨架与外层分开，外层和胞质膜相对于细胞骨架和细胞质逆时针旋转大约 30°(图 12－9b)。**外层**(cortex)是由一厚层附着在胞膜内表面的外周蛋白质构成的。外层至少有两个功能：加强胞质膜和结合母体 mRNA。

外层和胞质膜的旋转产生了一个动物极胞质与植物外层膜相接触的区域。该区域称为

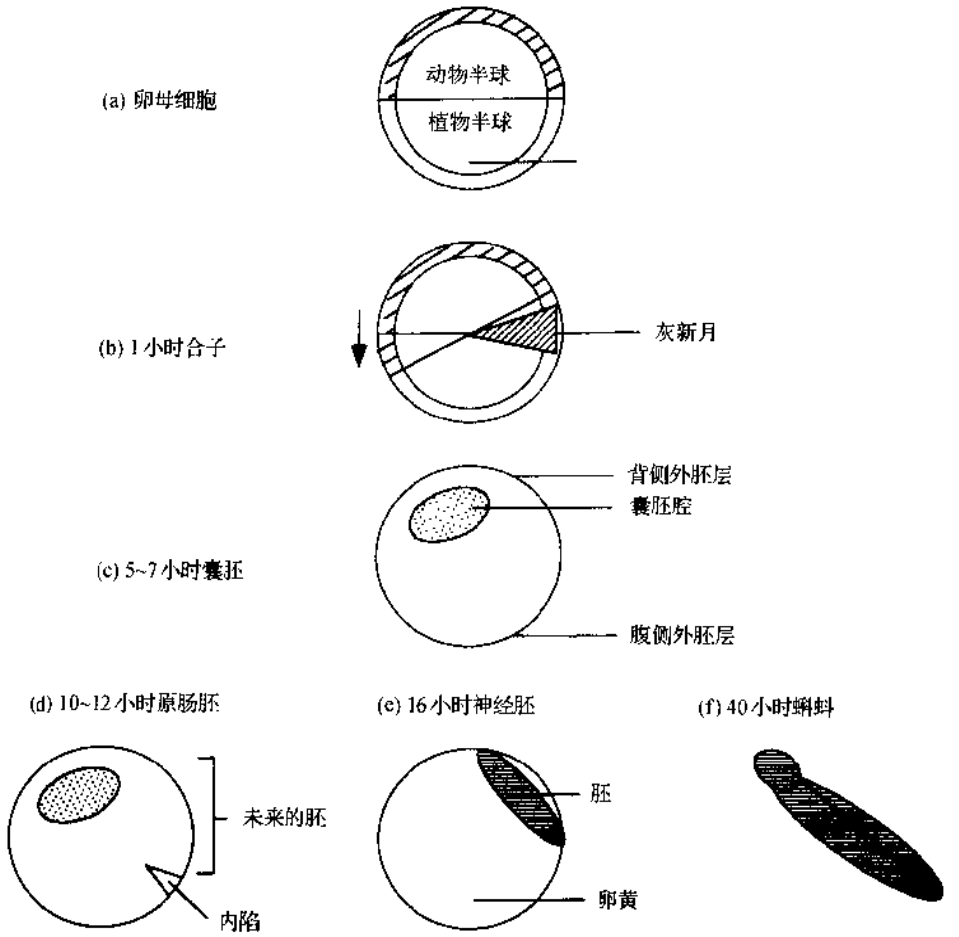


图 12－9　两栖动物的发育：从卵到蝌蚪。(a)未受精的两栖动物卵或卵母细胞在发育过程中极化并形成动物-植物轴。特化的转化生长因子(TGF)(mRNA)在植物半球浓度很高，但直到受精才转化；(b)受精时，植物外皮(胞膜下的蛋白质细胞骨架)和胞质膜稍微旋转使得植物外皮的一部分和胞膜与动物极的细胞质接触。外皮和膜的这一区域称作灰新月。在这一区域中，产生能够诱导前后轴和多种组织(外胚层、中胚层和内胚层)发育的信号蛋白；(c)多细胞分裂(有丝分裂)导致称为囊胚的细胞团；(d)靠近灰新月背部外胚层内陷的形成导致中胚层和内胚层的形成以及原始肠道(内胚层)的形成。这就是原肠胚形成；(e)由背部外胚层形成神经管称作神经胚形成。神经管形成的阶段被称作神经胚；(f)蝌蚪在卵黄的表面发育。

灰新月(grey crescent)，它的颜色通常能够与动物半球和植物半球区分开来。

外层和胞质膜的受精与旋转触发受精卵的分裂。很多快速细胞分裂超过 7 个小时就形成了一个球形细胞团，称作**囊胚**(blastula，图 12－9c)。在囊胚动物半球是中空的，称作**囊胚腔**(blastocoel)。覆盖中空腔的细胞构成了外胚层。外胚层为将来的**背内胚层**(dorsal endoderm)和**背中胚层**(dorsal mesoderm)提供细胞。植物极为将来的**腹内胚层**(ventral endoderm)和**腹中胚层**(ventral mesoderm)提供细胞。

灰新月是能够刺激原肠胚形成的区域的基础。植物半球与将来的胚腹区有密切的关系。**原肠胚**形成(gastrulation)形成一消化道并确定未来胚的后部区域(图 12－9d)。因此，原肠胚形成导致腹背轴以及前后轴的形成，由于灰新月总是在精子进入卵母细胞的对侧形成，所有精子进入的位点必是何处灰新月形成并原肠胚形成发生的一个重要信号。

受精之后大约 12 个小时，灰新月区域上面的组织，即背外胚层，开始内陷。受精产生的生长因子诱导次级生长因子的产生，这些因子可以刺激背外胚层的移动和内陷。内陷的细胞形成了胚孔唇。**胚孔唇**(blastopore lip)是原肠胚形成的第一个表示。生物最初肠道的腔称作**原肠**(gastrocoel)或**原肠腔**(archenteron)。原肠胚形成大大减少了囊胚腔的大小。但两栖动物

中原肠胚形成比肠道的形成多得多。它使得背侧外胚层向前移动，引发背侧内胚层和中胚层的发育；还使得腹侧外胚层内陷发育成腹侧中胚层。有证据显示，植物极和灰新月区域的细胞产生两种不同的生长因子，诱导动物和植物极之间的细胞。16 小时之后，特定的背侧中胚层细胞发育成脊索，其他的中胚层发育成体节和肌肉。

神经胚形成发生在背侧中胚层和脊索发育期间。神经管的形成起始于背侧外胚层内陷沿着胚长轴形成神经板的时候。几小时之内，神经板细胞内陷形成神经管。这一时期的胚称作神经胚(图 12－9e)。和神经管相关联的细胞发育成**轴突**(neuron)和**神经胶质细胞**(glial cell)。

神经胚形成完全之后大约一天，就可发育成一个能游泳，可自由捕食的蝌蚪(图 12－9f)。尾在原肠胚最初起始的位点发育，躯体和头由动物极的细胞形成。

12.27　光滑爪蟾胚中哪些因子控制组织和轴的发育?

卵母细胞的动物-植物极和受精卵(合子)归因于在两个半球中缺失的不同母体 mRNA。据认为**碱性成纤维细胞生长因子**(basic fibroblast growth factor，bFGF)的 mRNA 附着于植物半球的外皮。受精时，bFGF mRNA 的抑制因子失活，信使得以转译。另外，实验显示，另一个植物半球中的蛋白质，称作头蛋白，当它与动物极细胞质接触时，其母体 mRNA 表达。头蛋白的产生发生在灰新月下面。因此，受精和外皮-膜相对于细胞质的旋转之后，至少两个生长因子在刺激细胞分裂，影响细胞分化(图 12－10)。植物半球的细胞产生的 bFGF 刺激赤道细胞分化成中胚层。灰新月区域下面的细胞产生的头蛋白被认为将确定 **Nieuwkoop**(产生 knee-OYV-kop)**中心**(center)。头蛋白影响位于赤道(即灰新月所处的位置)邻近的细胞，形成 **Spemann**(产生 SPEH-mahn)**组织者**(organizer)。Spmann **组织者**刺激原肠胚形成并定位于胚孔的背唇。Nieuwkoop **中心**也表达 Vg1 RNA(专一的与植物极外皮相关)。Vg1 RNA 编码大量的**转化生长因子**(transforming growth factor，TGF)家族，可能是光滑爪蟾信号蛋白之一，记作 *Xwnt*("X"表示蛋白质是在光滑爪蟾中产生的；"w"暗示它与果蝇无翅蛋白质关系密切；"n"表示它是神经组织发育所必需的；"t"显示不适当的表达可导致肿瘤的生长)。

在囊胚 5～7 小时之间(图 12－10c)，赤道细胞已分化成赤道中胚层和 Spemann 组织者。产生于 Nieuwkoop 中心的头蛋白被认为可诱导 Spemann 组织者中属于转化生长因子(TGF)家族至少两种蛋白质的合成。蛋白质 **Xwnt** 和**活化素 B**(activin B)合成于 Spemann 组织者，据认为能够促进原肠胚形成和前后轴的发育(图 12－10e)。尾的发育位于 Spemann 组织者的附近。另外，这些蛋白质参与了背中胚层的发育。

例 12.15

当 Xwnt－1 或 Xwnt－8 的 mRNA(编码各自的蛋白质)被注射到爪蟾胚的动物极，就会刺激二次原肠胚形成的发生和二次胚的发育。更令人惊讶的是，当 Xwnt－1 或 Xwnt－8 的 mRNA 被注射到植物半球，发生了原肠胚形成而且第二个带有前后轴和腹背轴的胚发育了。尽管蛋白质 Xwnt－1 或 Xwnt－8 都不是由 Spemann 组织者产生的自然诱导物，一个家族的成员(还远不能描述)被认为诱导了当 Xwnt－1 成 Xwnt－8 mRNA 被注射后所看到的活性。

Xwnt 蛋白质对于在原肠胚形成中转化某些背侧内陷外胚层成为背侧中胚层是十分重要的，而这些背侧中胚层是要继续发育成脊索的。爪蟾中描述的 Xwnt－8 蛋白质类似于属 Wnt 生长因子和果蝇的无翅蛋白，是节段极性化基因的产物之一。活化素 B 的 mRNA 注射到动物极或植物极诱导了不完整的第二个胚。因此，这第二个生长因子也起到了诱导原肠胚形成和建立前后轴与腹背轴的作用。

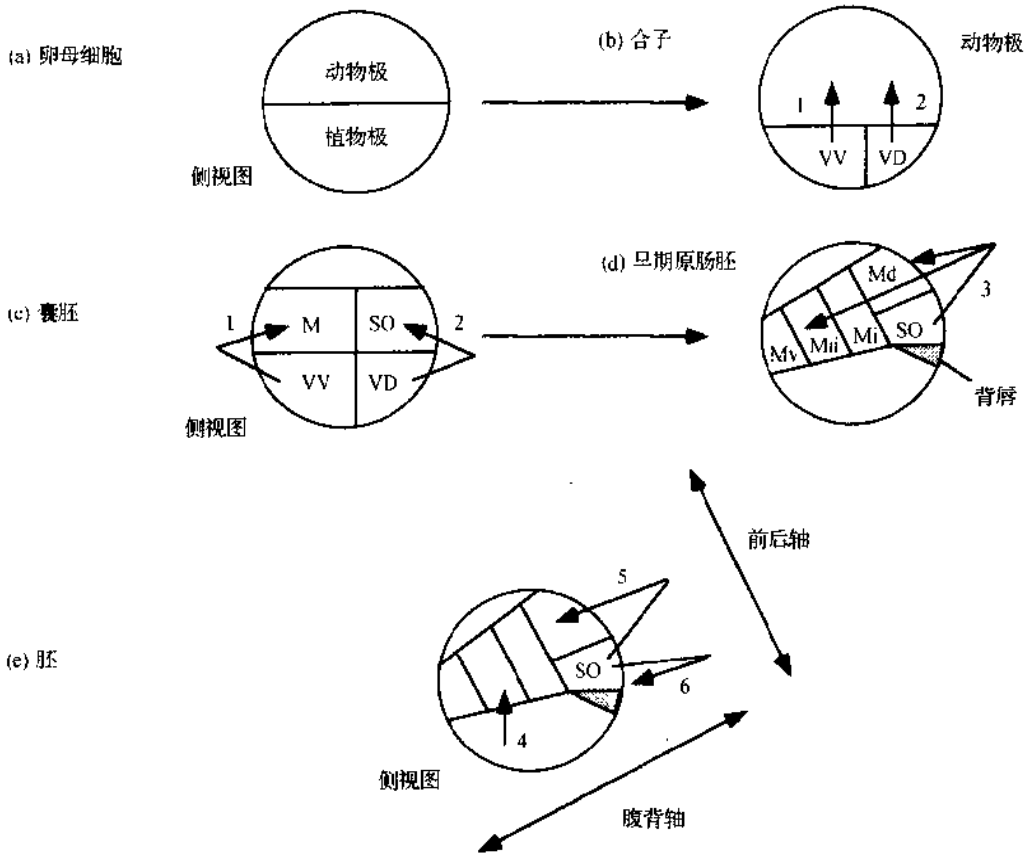


图 12－10　两栖动物中控制组织发育的信号。(a)两栖动物卵母细胞有由两个半球不同成分确定的动物-植物轴。(b)卵母细胞受精触发了外皮和与细胞质相关联的胞膜的旋转，产生了灰新月。腹植物极(VV)和腹背区(VD)起始表达不同信号肽。从这些区域引出的箭头表示了生长因子向 overlying 区域的扩散。箭头旁边的数字表示生长因子合成大致的顺序。(c)VV 区的细胞产生碱性成纤维生长因子(bFGF)——第一信号；VD 区(Nieuwkoop 中心)的细胞产生肽段头蛋白(Nog)和转化生长因子(Xwnt)——第二信号。腹侧中胚层(Mv)由 bFGF 诱导，而 Nog 和 Xwnt 诱导 Spemann 组织者(Spemann organizer，SO)的发育和原肠胚形成的起始；(d)远端胚孔唇的 Spemann 组织者产生肽段活化素 B 和 Xwnt，诱导中胚层的间介型(Md、Mi 和 Mii)——第三信号；(e)Spemann 组织者还建立了胚的腹背轴和前后轴。中胚层和内胚层被另一个称为骨形态发生蛋白(BMP－4)——第四信号的转化生长因子(由 VV 区产生)影响。goosecoid——第五信号——在胚的前区最大表达，短尾——第六信号——主要在生物体的后部产生。

原肠入口处(原始肠道的腔)高浓度的 Xwnt 和活化素 B 在该区域促进尾的形成，而低浓度的这些蛋白质扩散到胚更远端的区域(在腹侧还产生 bFGF)，刺激称为 goosecoid 的蛋白质产生，该蛋白质将变成头。这种蛋白质类似于 gosseberry 和 bicoid 的蛋白质，这两种蛋白质分别是果蝇中节段极性化和头发育所必需的。由于 goosccoid 也是蟾蜍头和躯干发育所必需的，因此它的名字由 gooseberry 的前一部分和 bicoid 的后一部分演变而来。原肠入口处高浓度的活化素 B 似乎能够刺激一种尾发育所需蛋白质**短尾**(brachyury)的产生。在鼠中发现了相似的蛋白质。鼠的基因突变导致不正确的中胚层形成和一条短尾，所以叫做短尾。这种蛋白质是否与果蝇中的 nanos 或其他尾决定因子相关还不得而知。

由植物极产生的碱性成纤维生长因子(bFGF)在中胚层组织的发育中尤为重要。bFGF 和活化素 B(由 Spemann 组织者产生)的梯度共同产生了大量的不同中胚层组织，有助于确定腹背轴(图 12－10e)。高浓度的 Xwnt 刺激背侧中胚层的发育。在植物极中，有高浓度**骨形态发生蛋白**(bone morphogenetic protein－4，BMP－4)，bFGF 和 BMP－4 刺激腹侧中胚层的发育。BMP－4 是生长因子 TGF－β 家族的成员。生长因子(以合成的顺序编号)和产生生长因子的组织(VV、VD、Mv、SO 等等)发育之间的关系简要概括如图 12－10。

12.28　原始的胚发生层(外胚层、中胚层和内胚层)是如何发育成两栖动物的?

外胚层或细胞的外层在囊胚的发育期间形成。原肠胚形成以及背外胚层转换成背内胚层和背中胚层,据认为需要 Spemann 组织者表达的 Xwnt 和活化素 B。暴露于 Xwnt 和活化素 B 背侧或腹侧的外胚层将产生一个带有头和尾、脊索、脑、眼和肌肉的不发育胚胎。很显然,生长因子 Xwnt 和活化素 B 能够诱导外胚层经历原肠胚形成并形成内胚层和中胚层。脊索由背中胚层形成,肌肉由侧中胚层形成。神经组织由背外胚层发育而成。

12.29　在个体发育中两栖动物的同源异型基因(*xhox*)起到了怎样的作用?

在胚胎的早期第一个被转录的同源异型框基因之一是 *xhox-3*。它以分级的方式沿着前后轴在"赤道"的中胚层表达,在 Spemann 组织者最大,Spemann 组织者最远的中胚层最小。*xhox-3* 在最远处的过量表达阻碍了头的发育。因此,一个从 Spemann 组织者到最远端中胚层的 *xhox-3* 梯度在确定前后轴中是很重要的。

xhox-3 在中胚层组织中的表达由 bFGF 诱导,并不由发现于蛙胚中的血小板衍生生长因子(PDGF)诱导。因此,Xhox-3 表达发生不会早于囊胚阶段。事实上,显著的 Xhox-3 mRNA 首先在早期的原肠中发现。大量的不同 *xhox-3* 表达发生在晚期的原肠和早期的神经胚阶段,那时"赤道"中胚层的间介型已经发育。Xhox-3 的 mRNA 由低和高水平的 bFGF 诱导。锂抑制这种诱导。高水平的 Xwnt 似乎阻止 Xhox-3 mRNA 的产生。在尾芽和蝌蚪阶段,Xhox-3 mRNA 的浓度继续下降至非常低的水平。

同源异型蛋白 Xlab(类似于果蝇的 Labial,鼠的 Hox-2.9 和 Hox-1.6 以及鸡的同源异型基因)的 mRNA 首先是在蛙早期原肠中发现的,峰值在中肠胚阶段并主要浓缩在胚孔的背唇。

基因 *mix-1* 在合子转录之后迅速被活化,有一同源异型基因,与 *goosecoid* 有 53%的同源性。Mix-1 的 mRNA 没有在背侧唇(Spemann 组织者)发现,但主要在未来的内胚层表达。

鸟类的发育(家鸡)

12.30　鸟类的早期胚胎发育,尤其与腹背轴决定相关的发育是怎样的?

鸟类的卵母细胞(未受精卵)的卵发生期间,已知动物-植物轴的极性化已经建立(图 12-11)。动物-植物轴对于在发育中的胚胎里决定腹背轴很重要。动物半球提供细胞质和形成胚的后续细胞,而植物半球作为卵黄提供生物体发育所需的营养。

卵受精触发**卵裂沟**(cleavage furrow)在动物半球表面一称为**胚盘**(blastodisc)的区域形成(图 12-11b)。许多快速细胞分裂导致一称作囊胚层的细胞盘形成,该囊胚层带有一中空的囊胚腔使其处于卵黄顶部的下面(图 12-11c)。位于卵黄上的囊胚层和囊胚腔代表了早期囊胚。这些发育的早期阶段当受精卵经过母鸡的输卵管时就发生了。

早期的个体发育显示,腹背轴(VD)在卵母细胞中建立与动物-植物(AnVg)轴重叠。在这一章后面的部分将讨论到参与 AnVg 和 VD 建立的因子。

12.31　在小鸡中内胚层和中胚层是如何形成的?

据认为内胚层和中胚层都是由**上胚层**(epiblast,囊胚层中外胚层的顶层细胞,图 12-11c)形成的。上胚层将提供所有胚胎组织(内胚层、外胚层和中胚层)以及某些胚外的结构(羊膜)发育所需的细胞,但随着新组织发育的进展,另一层细胞在卵黄之上,囊胚腔之下形成。这层细胞叫做**下胚层**(hypoblast),首先出现在胚盘的一个称为**后缘区**(posterior marginal zone)的边缘。下胚层只是胚外结构(诸如 yolk sac stalk)的起源。后缘区意味着胚胎已经开始前后轴的形成了。

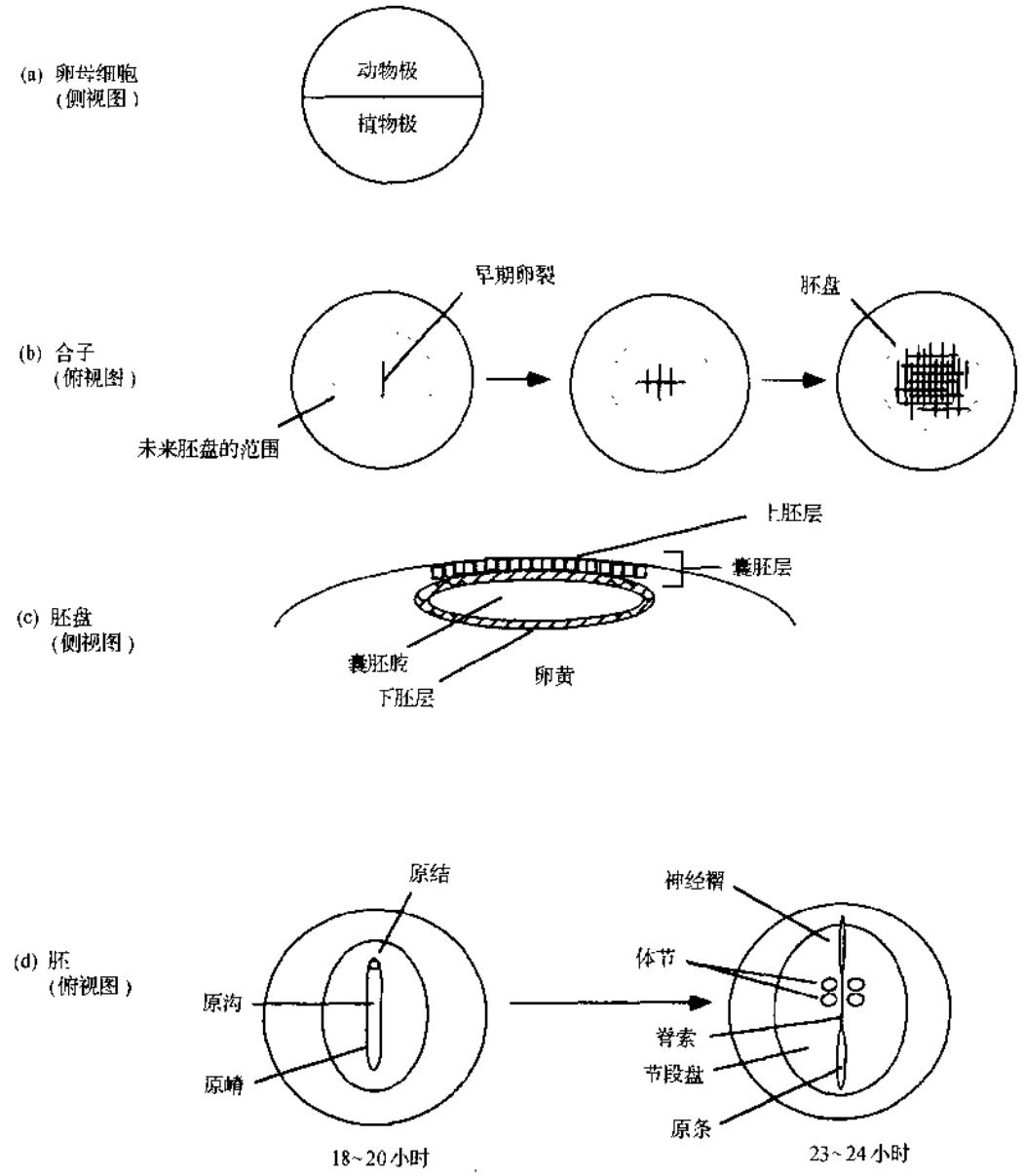


图 12-11　小鸡的发育:由卵到胚。(a)小鸡卵母细胞有由两个半球中多种成分确定的动物-植物轴。动物-植物轴是腹背轴的前体。(b)受精触发胞质膜内陷并在动物极一盘状区域形成一层细胞。细胞盘称作胚盘。(c)小鸡的囊胚由覆盖在一个位于发育中鸡的植物半球叫做囊胚腔的小洞上的盘(两层细胞厚)构成。早期囊胚腔的底由卵的胞膜确定。在原肠胚形成和中胚层形成之前,一层细胞移到囊胚腔的底部(卵的胞膜)。这层细胞称作下胚层而且由于其产生信号肽而十分重要。囊胚层中细胞的顶层叫做上胚层。这些外胚层细胞是中胚层的起源。(d)卵母细胞受精后 18~20 小时发育成原条。原条有节、沟和脊。(e)受精后大约 23~24 小时,胚在头部区域发育一个神经褶以及伸长的脊索两侧的体节。当随后越来越多的副节段在胚的后部区域发育时原条退化。

内胚层是通过外胚层细胞沿着前后轴向下移动到囊胚腔,随后继续向外胚层下面进行包围形成的。其结果是囊胚有了两层组织:外胚层和内胚层。随着内胚层的形成,外胚层细胞向下运动,进入外胚层和内胚层之间的空间,产生中胚层。最初,中胚层细胞松散的相连,并因此称作**间充质**(mesenchyme)。间充质细胞依信号凝集,从前端起始形成各种类型的组织:脊索、成对体节和**侧板中胚层**(lateral plate mesoderm,位于发育中的脊索和体节两侧的中胚层)。

12.32　前后轴(AP)是什么时候确定的?

一般认为下胚层刺激外胚层的细胞沿着前后轴向下胚层移动。外胚层细胞的移动首先起始于后缘区附近然后向前扩散。实验中将下胚层旋转 180°,前后轴也会旋转 180°。这就意味着后缘区在指导 AP 轴的形成中不再重要。外胚层细胞向下移动,将囊胚腔切成两半,然后向周围移动排列在下胚层上面的囊胚腔底部。这些细胞组成内胚层。后缘区出现在精子头部进入动物半球以及第一个卵裂沟形成的位置。在许多情况下,某些信号引发后缘区的形成,进而诱导下胚层中的前后轴。然后,在大约受精后 10 小时,下胚层诱导胚中的前后轴。

外胚层沿着前后轴创造内胚层和中胚层的运动与原条、原沟和原脊在发育中的胚胎表面的形成相关联(图 12 - 11d)。

12.33　消化道的形成是什么时候出现的?

消化道形成首先的表示是前外胚层在头部区域下面的折叠。这大约是在受精后 1.5 天开始的。一天之后,外胚层和内胚层在整个胚下面生长,头部已经向下折叠。受精之后二天半,肠和卵黄通过卵黄蒂相连。

12.34　鸟类中的神经胚形成发生在什么时候?

受精后大约 18～20 小时,胚胎的前 1/3 由中胚层发育成一明显的脊索。前 1/3 还能看到神经板,而胚胎的后 2/3 则会发现原窝、原沟和原脊。神经管形成是在受精后两天半完成的。

几小时之后,**神经板外胚层**(neural plate ectoderm)开始形成神经管和神经嵴细胞。神经管形成的过程是由前端向后端进行的。到受精后第二天,3/4 以上的神经管已经形成。与神经管相关的神经嵴细胞发育成神经元和辅助胶质细胞。

12.35　小鸡什么时候节段化?

最先的节段基因可能在受精后 5～15 小时下胚层发育时在胚胎后端(后缘区)开启。由最先节段基因开启的节段基因序位可以引导原肠和神经板在表面的形成以及中胚层在表面下的形成。受精后大约 18 小时脊索已经形成。在受精后 1.0～1.5 天神经胚形成和体节出现时,同源异型基因毫无疑问的被开启。

12.36　小鸡中控制胚胎发育的信号有哪些?

有些影响蛙早期胚胎发育的生长因子也影响小鸡。高浓度的成纤维生长因子(FGF)被认为与后缘区的细胞相关。FGF 是通过梯度建立前后轴的主要代表。可能后缘区中的高浓度诱导外胚层和/或下胚层产生活化素。FGF 和活化素一同开启编码蛋白质 brachyury 的基因。在两栖动物和鼠类中,brachyury 与前后轴的发育有关。尤其是它刺激尾和多种类型中胚层组织的发育。

可能在低浓度的 FGF 时,Wnt-like 蛋白质在胚胎前端和(或)下胚层产生。Wnt 被认为开启同源异型基因 *goosecoid*。goosecoid 主要影响头部组织,刺激前后轴的发育。

据认为在下胚层下面产生的活化素刺激中胚层发育成大量组织。高浓度的活化素可以将中胚层在头部区域转化为脊索;中浓度活化素将中胚层变成体节和肌肉;低浓度活化素刺激中胚层发育成疏松中胚层或间充质。与活化素协同作用的其他因子对小鸡组织的刺激尚不清楚。

最先的节段基因,例如 *goosecoid*,在下胚层发育(受精后 15 小时)后被开启。以后的节段基因家族(诸如缺口、匹配规则和节段极性化等)还没有描述的这么清楚。小鸡中的同源异型基因记作 *chox*。它们是在神经胚形成和消化道形成期间表达的。*chox* 基因不仅在躯体的节段化中十分重要,而且在附肢的节段化中也很重要。

12.37 *chox* 基因的表达和软骨及骨的发育之间有什么关系?

小鸡肢芽的发育解释了 *chox* 基因是如何参与了软骨及骨的形成的。大多数小鸡的 *chox* 基因是在肢芽的背侧后部区域表达的(图 12-12a)。尤其是小鸡 *chox-4g* 基因只在大多数背

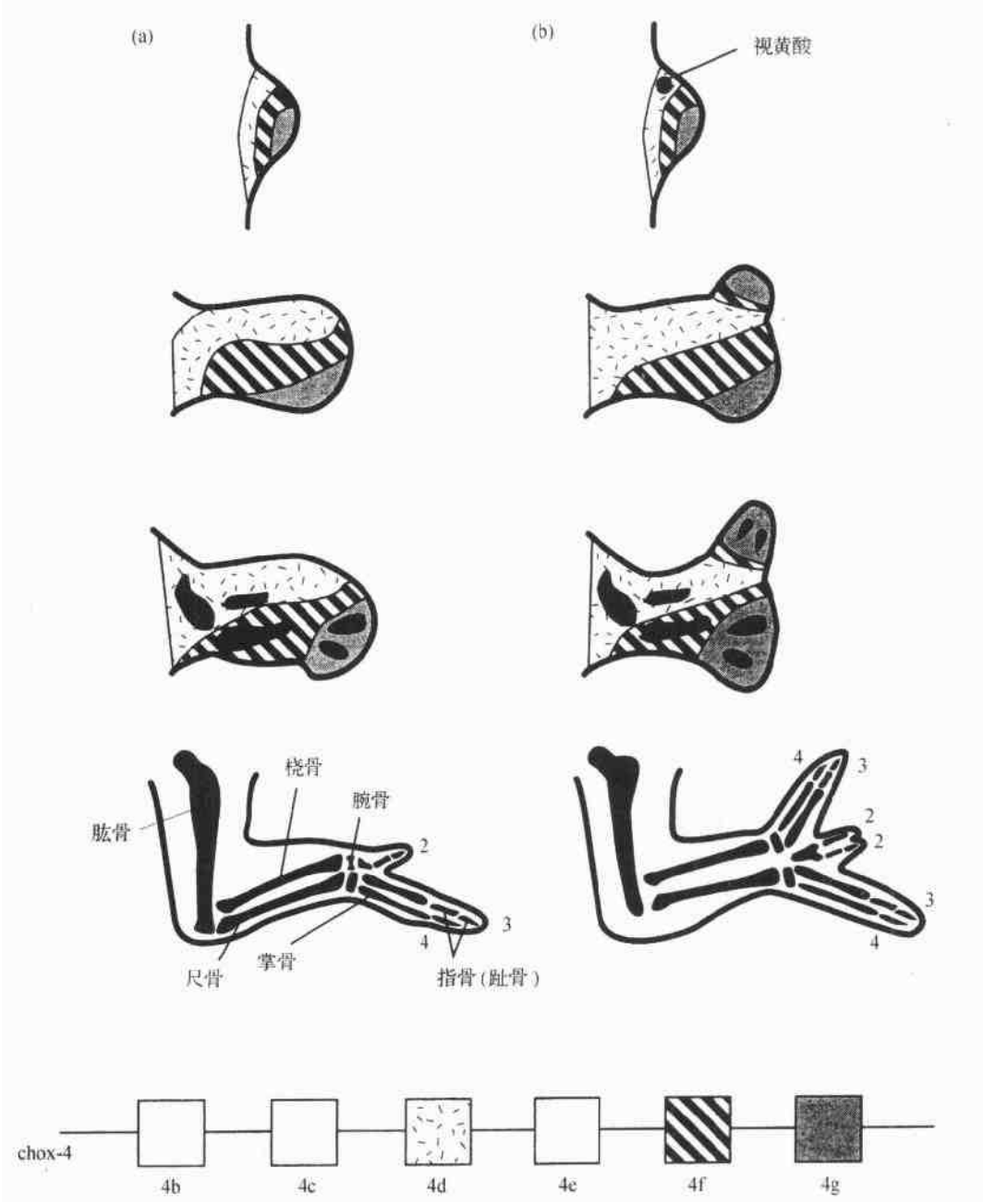


图 12-12 发育中的小鸡肢体同源异型基因的表达。(a)发育中的鸡肢芽 *chox-4* 基因的表达显示发育中的肢体大多数后部区域的基因产物与控制大部分后部躯体的基因相关联。基因产物 Chox-4g 被限制在肢芽远离躯干的一个很小的后部区域中。除了肢芽靠近躯体的前部,已在肢芽其他的大部分区域发现该产物。肢芽伸长时,肢体节段旋转,使得它们更为垂直于远近轴。大多数 *chox-4* 基因在发育中的肢芽远端部分而不是近端部分表达,据推测是由于远端区域将发育成指,需要更为复杂的操作。(b)*chox-4* 基因通常只是在肢芽的后部区域表达,但也能在视黄酸的诱导下在肢芽的前部区域表达。置于生长肢芽前部区域的视黄酸开启全部本来只在肢芽后部区域表达的 *chox-4* 基因。这导致产生一个有多余指的残畸翅。代替了指 2、3 和 4(从前向后),异常的指有指 4、3、2、2、3 和 4(从前向后)。指的数目多了一倍,而前部的指转而向后(与后部指呈镜像)。

侧后部节段表达。小鸡 *chox-4g* 基因等同于鼠的 *hox-4.8* 基因。在大部分前部节段中，几乎没有 *chox* 基因表达。例如，在大多数小鸡肢芽的前部节段只有 *chox-4d* 基因表达。

全部 *chox-4* 基因的表达导致将形成指的软骨及骨的发育。除去 *chox-4g* 的所有 *chox* 基因的表达导致尺骨软骨及骨的发育。类似地，*chox-4d*、*4c*、*4b* 和 *4a* 的表达（未标示）和 *chox-4g*、*4f* 和 *4e* 的抑制导致桡骨软骨及骨的发育。肱骨在 *chox-4* 基因表达数目最少的区域发育。

在发育中的肢芽全部注射视黄酸开启了所有前部节段的 *chox-4* 基因。视黄酸的梯度产生了基因表达的梯度，从而肢芽前部的区域和肢芽后部的区域一样（图 12-12b）。最终的结果是产生了一个有三个指的镜像复制的翅肢。视黄酸或使用同一受体的其他密切相关的信号分子起到了自然诱导物的作用。

植物的发育

12.38　在拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）中胚胎发育的遗传学是怎样的？

拟南芥合子经过生长和不等分裂产生了一个**小顶端细胞**（apical cell）和一个大得多的**基细胞**（basal cell）。这就建立了未来胚的**顶基轴**（apical-basal axis）。大量基因中的任何一个突变将阻止顶基轴的发育。这些突变导致了丝体中增殖几乎完全一样的细胞。

顶端细胞生长并分裂，首先纵向然后再横向，产生将称为胚的细胞团。胚在一由原始基细胞形成的"柄"上。胚的绝大部分顶端参与形成两个**胚叶**（子叶，cotyledon）和茎分生组织，胚剩余的部分将发育成**下胚轴**（hyposotyl）、**胚根**（radicle）和根分生组织。**分生组织**（meristem）是在暴露于适当的信号分子时可表现出爆发性的细胞增殖和分裂的组织。阻止下胚轴和胚根发育、甚至子叶也显著减少的突变已经发现。突变的胚由不能使顶端细胞分化的细胞组成。一迟后作用基因阻止茎分生组织的发育。据认为，建立顶基轴的基因可以以类似于 *Drosophila* 节段基因的调控序位相互作用。

独立于控制顶基轴发育的基因的是**辐射状轴**（radial axis，由中心向周边）基因。这类基因中有一些在下一个问题中将讨论。另一类基因（未讨论）控制植物的形状。

12.39　成熟拟南芥组织发育的遗传学是怎样的？

高等植物中花的形成经历两个阶段：将营养顶端和腋生分生组织转变成花分生组织，再发育成花。控制第一个阶段的基因已经被阐明：*leafy*（*lfy*）、*apetala-1*（*ap-1*）和 *cauliflower*（*cal*）。*leafy* 诱导产生 apetala-1 和 cauliflower，这二者可转化营养顶端和腋生分生组织为花分生组织。这三个调节蛋白质活化花的发育所需的 *apetala-2*、*apetala-3* 和 *agamous* 基因。由花分生组织开始的花发育依赖于像动物中同源异型基因那样的基因。这些植物同源异型基因中的突变产生**异位**（ectopia）的花组织。

一朵典型的花（图 12-13a）由四个从中心向外的同心环组织构成：心皮（封闭胚珠）、雄蕊（产生花粉）、花瓣（附着 polinator）和萼片（保护花在芽中的部分）。同源异型基因的突变影响辐射状并将减少相邻环的差异或改变各种环，使得它们表现得完全相同。

三个不同的同源异型基因的出现引起花的发育中能观察到的突变株表型。称为 ***agamous***（*ag*，"没有配子"）的同源异型基因，在花分生组织的中心表达并影响心皮（中心环）和雄蕊（自中心的第二环）的发育。*ag* 中的突变阻止了心皮和雄蕊的发育以及配子的产生，所以，因此突变而得名。花组织确实发育了，但萼片代替了心皮在中心的位置，花瓣代替了雄蕊的位置（图 12-13b）。

第二个同源异型基因，*apetala-2*（*ap-2*），在两个外轮生体中表达，并且它可影响花瓣（自中心向外的第 3 个轮生体）和萼片（自中心向外的第 4 个轮生体）的发育。在 *ap-2* 中的突变阻碍花瓣和萼片的发育。该花瓣被另外的雄蕊所取代，而萼片被心皮所取代。

实验显示基因产物 Agamous 和 Apetala 2 彼此之间互相限制在花分生组织中表达为不

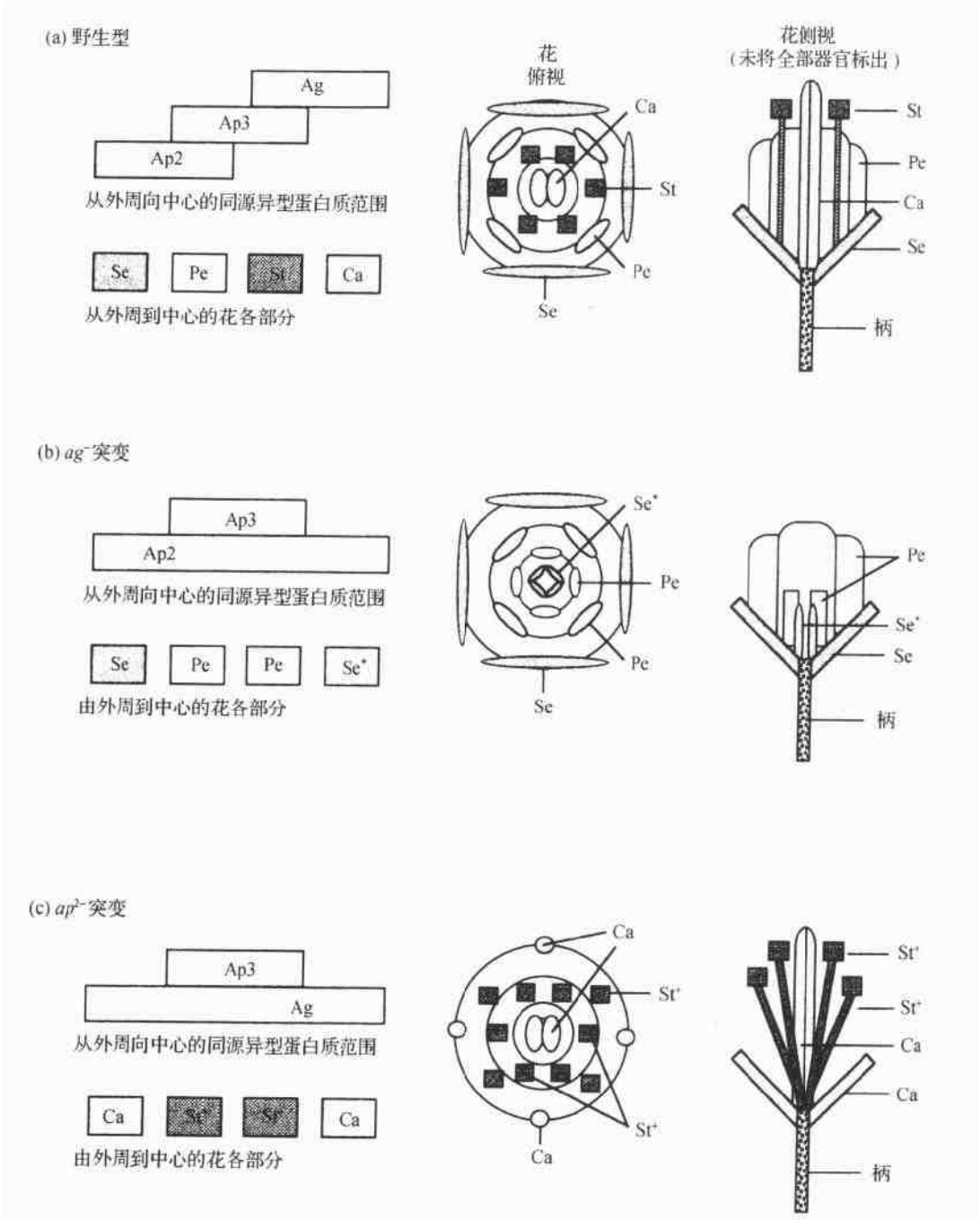


图 12－13　拟南芥发育中花的同源异型基因表达。在第一列中同源异型基因的表达产物(自边缘向中心)在花组织中标示为 Ap2、Ap3 和 Ag。在同源异型基因产物影响下发育的部分标示为 Se(sepal)、Pe(petal)、St(stamen)和 Ca(carpel)。第二和第三列显示了在同源异型基因产物影响下形成的花的俯视和侧视图。同源异型基因 *agamous*(*ag*,编码产物 Ag)是心皮发育所需的,而雄蕊的发育则 *agmaous* 和 *apetala－3*(*ap－3*,编码产物 *Ap3*)两者都需要。基因 *apetala－2*(*ap－2*,编码产物 *Ap2*)和基因 *apetala－3* 是花瓣发育所需要的,但只有 *apetala－2* 是萼片发育需要的。(a)拟南芥野生型花由四个同心环构成。最外层的环有 4 个萼片;从边缘数第二环有 4 个花瓣。第三环有 6 个雄蕊:4 个长的在中间的位置,两个短的在外围。里面的环被由两个融合心皮构成的雌蕊群(一朵花所有心皮的集合)、顶有一短型(未标示)和柱头乳突(未标示)所占据。(b)*ag* 缺失时,所有组织服从于 Ap2。尽管 4 个萼片理论上应代替两个花瓣的发育,但器官(*)的完全一样不能由它们的表型来判断。花瓣的发育代替了雄蕊。(c)*ap2* 基因缺失时,所有组织都被 Ag 影响。雄蕊的发育替代了花瓣;心皮的发育替代了萼片。雄蕊的部分或全部发育失败(+)。

同的区域,就如同果蝇的缺口基因彼此限制表达一样(图 12－6)。如果这两个同源异型基因中的一个丢失,另一个基因的表达就会遍及整个花,并引起环沿着不同的方向发育。遗传学实

验和推定的 DNA 结合区的发现暗示了 Apetala－2 发挥了 *agamous* 转录抑制因子的功能。类似的 DNA 结合区域的发现表明了 Agamous 是 *apetala－2* 基因的抑制因子。

另一个同源异型基因 ***apetala－3*** 被限制在两个中心环发育的区域。一个称作 superman 的基因产物使得 apetala－3 保持在中心环之外。其他不确定的基因必定限制了 *apetala－3* 在花边缘的表达。*apetala－3* 和 *apetala－2* 都是花瓣发育所必需的。在 *apetala－3* 中的突变导致萼片替代了花瓣的形成。雄蕊的发育依赖于 *apetala－3* 和 *agamous*。*apetala－3* 中的突变导致心皮替代了雄蕊的形成。

复　习　题

选择题　选择一个最合适的答案。

1. 在果蝇发育中(　　)是最后一个阶段。　(a)卵母细胞　(b)幼虫　(c)蛹　(d)成虫　(e)细胞囊胚层
2. 从受精的果蝇卵到细胞囊胚层大约有(　　)时间。　(a)10 分钟　(b)2.5 小时　(c)12 小时　(d)1 天　(e)9 天
3. 从细胞囊胚层的(　　)区域细胞产生内胚层和中胚层。　(a)头沟　(b)腹沟　(c)神经板　(d)原沟　(e)上述都不是
4. 果蝇细胞囊胚层中的(　　)细胞发育成腹神经。　(a)背外胚层　(b)中胚层　(c)外周外胚层　(d)内胚层　(e)腹外胚层
5. "真正的"同源异型蛋白质有(　　)DNA 结合域。　(a)螺旋-转角-螺旋　(b)螺旋-锌指　(c)螺旋-亮氨酸拉链　(d)β-带　(e)上述(a～d)所列的任何一个
6. 破坏"真正"同源异型基因的突变通常导致(　　)。　(a)不可识别物质的形成　(b)一半生物体的缺失　(c)非同源节段转换为同源节段　(d)同源节段转换为非同源节段　(e)节段数量的增加
7. (　　)基因家族的突变将导致最严重的发育破坏。　(a)母体基因　(b)缺口基因　(c)匹配规则基因　(d)终止基因　(e)同源异型基因
8. 果蝇中，副节段(PS)由(　　)基因家族确定。　(a)母体基因　(b)缺口基因　(c)匹配规则基因　(d)终止基因　(e)同源异型基因
9. 在果蝇的发育中通常有(　　)个副节段。　(a)2　(b)4　(c)7　(d)9　(e)14
10. 节段是由(　　)构成的。　(a)两个副节段　(b)副节段的后半部分　(c)副节段的前半部分　(d)副节段的后半部分加上进跟着下面一个副节段的前半部分　(e)上述都不是
11. 果蝇中的腹背轴极性依赖于(　　)。　(a)toll-ligand　(b)toll　(c)背部　(d)上述全部正确　(e)上述全部不是
12. 只由两层细胞构成的人类胚称作(　　)。　(a)囊胚　(b)胚盘　(c)胎盘　(d)羊膜囊　(e)卵黄囊
13. 人类的中胚层来自于(　　)。　(a)背外胚层　(b)腹外胚层　(c)背内胚层　(d)腹内胚层　(e)末端中胚层
14. 所有脊索动物中由中胚层组织发育来的硬棒叫做(　　)。　(a)脊索　(b)神经管　(c)脊髓　(d)神经板　(e)脊髓腔
15. 体节中有(　　)组织。　(a)生殖组织　(b)外胚层　(c)下胚层　(d)内胚层　(e)中胚层
16. 视黄酸已知影响肢体的发育。视黄酸和 *hox* 基因之间是(　　)关系。　(a)它抑制 *hox* 基因　(b)它活化 *hox* 基因　(c)*hox* 基因抑制视黄酸产生　(d)*hox* 基因活化视黄酸产生　(e)上述都不对
17. 发育中的肢芽大多数 *hox* 基因表达的区域最适于描述成(　　)。　(a)近端前区　(b)远

端前区 (c)近端后区 (d)远端后区 (e)上述都不对

18. 两栖动物中,"直接"刺激原肠胚形成和不同中胚层组织发育的区域是( )。 (a)灰新月 (b)Nieuwkoop 中心 (c)Spemann 组织者 (d)Leeuwenhoek 区 (e)dummkopf 中心
19. 在两栖动物中,( )区域对于背中胚层的发育十分重要。 (a)灰新月 (b)Nieuwkoop 中心 (c)Spemann 组织者 (d)Leeuwenhoek 区 (e)dummkopf 中心
20. 在两栖动物中,形成神经管的细胞来自于( )。 (a)外胚层 (b)内胚层 (c)中胚层 (d)脊索 (e)体节
21. 植物中的 *apetala-2* 基因缺失,( )组织将替代花的花瓣。 (a)萼片 (b)心皮 (c)雄蕊 (d)扩大的花瓣 (e)没有

是非题 正确的答案写"T",错误的答案写"F"。

1. 鱼、两栖动物、爬行动物、鸟和哺乳动物是与蚯蚓和节肢动物一样分节段的。
2. 在昆虫的蛹化阶段,称作成虫盘的细胞囊参与了最终头部、附肢(触角、腿、翅、平衡棒)和外生殖器的分化。
3. 一个成熟的果蝇称为蛆。
4. 滤泡细胞向发育中的果蝇卵母细胞提供 mRNA。
5. 蛋白质 bicoid 的 mRNA 在果蝇卵母细胞的前部发现,蛋白质 nanos 的 mRNA 则附着于卵的后部。
6. 合胞体囊胚层由含有多个核的单个细胞构成。
7. 果蝇中外胚层组织的形成称作原肠胚形成。
8. 果蝇中神经胚形成发生在胚的背侧表面并与原肠胚形成紧密相连。
9. 分化躯体节段的基因中很多都含有称作同源异型框的区域。
10. 同源异型框在同源异型蛋白中编码同源异型结构域。
11. 由匹配规则基因编码的蛋白质形成化学梯度,使得果蝇胚被分割成 14 个称为副节段(PS)的区域。
12. 据认为 bicoid 和 nanos 是活化因子/抑制因子蛋白质,活化自身转录或转译(Bcd→Bcd & Nos→Nos),但彼此之间互相抑制对方的转录或转译(Bcd⊣Nos)。
13. 同源异型基因在果蝇中直到蛹化才表达。
14. 果蝇中的终止发育依赖于编码肽激素和囊胚层中编码专一性 torso 基因受体蛋白的母体基因。
15. 果蝇中的腹背轴分化依赖于信号肽和像 toll 这样的酪氨酸激酶受体。
16. 减少果蝇中蛋白质 Dl 的突变将导致节段化胚的严重破坏,即没有腹侧组织。
17. 由于内层细胞团的发育,所以哺乳动物的囊胚是一个极性结构。
18. 受精后第 13 天的人类胚胎仍然由两层细胞的胚盘构成。背侧细胞层是上胚层,腹侧细胞层是下胚层。
19. 人类胚胎在第 15 到第 18 天当外胚层移入到外胚层和内胚层之间时发育中胚层。
20. 哺乳动物中的体节是描述副节段的中胚层立方体。
21. 体节提供细胞参与脊椎、肋骨、与脊椎相连接的肌肉和皮肤真皮中结缔组织的发育。
22. 人类肠道的发育起始于胚上面羊膜腔的一部分折叠到胚下面的时候。
23. 脊椎动物的肢体与身体躯干分节段的方式一样。
24. 视黄酸已知可以开启鼠的 *hox* 基因。
25. 两栖动物的卵受精后,外皮和胞质膜的旋转创造了一个称作 Spemann 组织者的区域。
26. 两栖动物中的灰新月和 Nieuwkoop 中心被认为是同一结构。
27. 两栖动物的 Spemann 组织者位于胚孔的背侧唇中。

28. 小鸡中，卵的动物半球提供细胞质和形成胚的细胞；植物半球发挥卵黄的作用，给发育中的生物体提供营养物质。

29. 减少植物基因 *agamous*(*ag*)的突变将完全阻碍花的发育。

30. 体节是节段发育中外胚层组织的立方体。

匹配题　将基因家族(B 栏中的 A～E)与相应的基因(A 栏中的 1～6)配对。

A 栏	B 栏
1. *bicoid*(*bcd*), *nanos*(*nos*)	A. 同源异型基因
2. *hunchback*(*hb*), *kruppel*(*kr*), *knirps*(*kni*), *giant*(*gnt*)	B. 匹配规则基因
3. *huckebein*(*hkbn*), *tailless*(*tll*)	C. 缺口基因
4. *runt*(*rnt*), *hairy*(*hry*), *even-skipped*(*eve*), *fushi tarazu*(*ftz*)	D. 节段极性化基因
5. *engrailed*(*eng*), *patched*(*ptc*), *wingless*(*wgl*)	E. 上述都不是
6. *labrum*(*lab*), *deformed*(*dfd*), *sex combs reduced*(*scr*), *antennapedia*(*antp*), *ultrabithorax*(*ubx*), *abdominal-A*(*abd-A*), *abdominal-B*(*abd-B*), *caudal*(*cau*)	

将生长因子或活化因子(B 栏中的 A～E)与产生它们的区域(A 栏中的 7～9)对应起来。

A 栏	B 栏
7. 植物半球除 Nieuwkoop 中心的部分	A. 碱性成纤维生长因子(bFGF)
8. Nieuwkoop 中心(灰新月)	B. noggin 和转化生长因子(Xwnt)
9. Spemann 组织者	C. 活化素 B 和 Xwnt
	D. brachyury
	E. goosecoid

将同源异型基因产物(B 栏中的 A～E)与它们在果蝇胚中的定位(A 栏中的 10～13)对应起来。

A 栏	B 栏
10. 节段 A5～A8	A. 触角足
11. 节段 T1～T3	B. 性梳减少
12. 节段 La(labium=C3)和 T1	C. Abdominal-A
13. 节段 Mn(mandible=C1), Mx(maxilla=C2), 和 La(labium=C3)	D. Labial
	E. 上述都不是

将小鸡组织(B 栏中的 A～E)与问题(A 栏中的 14～16)对应起来。

A 栏	B 栏
14. 什么组织在胚早期位于卵黄之上确定了前后轴？	A. 卵黄上皮
15. 什么组织产生活化素？	B. 上胚层
16. 哪个组织刺激了不同类型的中胚层发育？	C. 卵黄内层
	D. 下胚层
	E. 卵黄中胚层

术语　除非特别指明，每个答案为一个词。

1. 早期胚胎学家，例如 Ernst Haekel，曾用来描述动物经历远古祖先成熟过程的发育阶段。(三个词)

2. 果蝇中参与最终头部、附肢(触角、腿、翅和平衡棒)和外生殖器发育的细胞囊。(两个词)

3. 从蛹中出现的成熟果蝇。

4. 果蝇卵母细胞由某些位于卵母细胞前部的抚育细胞供给信使 RNA(mRNA)。这些来自于雌性的 mRNA 称作什么？(一个词＋mRNA)

5. 核在没有任何细胞分裂时增生导致的果蝇结构。(两个词)
6. 在果蝇中神经胚形成期间内陷外胚层的定位。
7. 编码螺旋-转角-螺旋结构域的同源异型基因部分。
8. 将不同的节段转换为几乎完全相同的节段,这种突变发生在什么基因家族?(一个词)
9. 特定的 DNA 结合蛋白使用弯曲-螺旋与 DNA 结合。这些结构域彼此相互附着的结构域叫什么名字?(两个词)
10. 某些 DNA 结合蛋白拥有的包括有金属元素的区域。(两个词)
11. 在果蝇胚中确定另一个副节段的基因。(两个词)
12. 果蝇中构成节段后部的副节段部分。
13. 由于 *antinnapedia*(*antp*)的突变在头部形成的附肢。
14. 控制头部和尾部发育的基因家族。(一个词)
15. torso 在果蝇中的结合能力。(三个词)
16. 与 torso 相关的酶活性。(两个词)
17. 腹侧外细胞基质中负责诱导果蝇胚腹背极性的信号肽。(两个词)
18. 在哺乳动物中,由囊胚壁长出的细胞发育成母体子宫内膜的组织。
19. 用来描述人的胚在受精后 13 天胚盘中背侧细胞层和腹侧细胞层的两个名词。13 天胚盘中的腹侧细胞层。
20. 从第 15 天到第 18 天起源哺乳动物胚的中胚层的胚层细胞。
21. 由中胚层在哺乳动物的脊索和神经管两侧发育成的成对结构(提供细胞形成脊椎、肋骨和肌肉)。
22. 哺乳动物中,由羊膜腔在胚下面折叠形成的器官。
23. 大多数 *chox* 基因表达的小鸡肢芽区域。(两个词)
24. 在爪蟾卵母细胞(未受精卵)的卵发生期间建立的极性。(两个词)
25. 爪蟾中,外皮和膜旋转时形成的区域,该区域使得动物极细胞质与植物极外皮发生接触。(两个词)
26. 爪蟾产生 noggin(也可能是 Xwnt)的灰新月下面的细胞中心。(两个词)
27. 胚孔背唇中的细胞群,负责促进原肠胚形成和前后轴在爪蟾中的发育。(两个词)
28. 在小鸡中卵受精触发了卵裂沟在动物半球称为胚盘区域表面的形成。由许多胚盘快速细胞分裂导致的细胞盘叫什么名字?
29. 小鸡中组织下胚层的胚盘边缘。(三个词)
30. 控制花发育的三个基因表现为同源异型基因,因为它们控制了发育区域,而且基因产物通过与_____的结合调节基因的表达。

答　案

选择题

1. d **2.** b **3.** b **4.** e **5.** a **6.** c **7.** a **8.** c **9.** e **10.** d **11.** c **12.** b **13.** a **14.** a **15.** e **16.** b **17.** d **18.** c **19.** c **20.** a **21.** b

是非题

1. T **2.** T **3.** F(成虫) **4.** F(抚育细胞向它提供 mRNA) **5.** T **6.** T **7.** F(中胚层和内胚层组织) **8.** F(在腹侧表面) **9.** T **10.** T **11.** T **12.** T **13.** F(至到合胞体囊胚层晚期或细胞囊胚层的早期) **14.** T **15.** T **16.** T **17.** T **18.** F(背侧细胞是外胚层,腹侧细胞是囊胚层) **19.** T **20.** T **21.** T **22.** T **23.** T **24.** T **25.** F(该区域是灰新月) **26.** F(Nieuwkoop 中心在灰新月的下面) **27.** T **28.** T **29.** F(萼片和花瓣形成发生,但雄蕊和心皮分

别被花瓣和萼片替代）　**30.** F(是在副节段中发育的中胚层组织结构体)

匹配题

1. E(母体基因)　**2.** C　**3.** E(末端基因)　**4.** B　**5.** D　**6.** A　**7.** A　**8.** B　**9.** C　**10.** E(abdominal-B)　**11.** A　**12.** B　**13.** E(吻突)　**14.** D　**15.** D　**16.** D

术语

1. 个体发育重现系统发生　**2.** 成虫盘　**3.** 成虫　**4.** 母体 mRNA　**5.** 合胞体囊胚层　**6.** 腹部　**7.** 同源异型框　**8.** 同源异型基因　**9.** 亮氨酸拉链　**10.** 锌指　**11.** 匹配规则基因　**12.** 前部　**13.** 腿　**14.** 末端基因　**15.** torso-like 受体　**16.** luo 氨酸激酶　**17.** toll-ligand　**18.** 胎盘　**19.** 外胚层/内胚层　**20.** 外胚层　**21.** 体节　**22.** 肠道　**23.** 远近轴　**24.** 动物-植物　**25.** 灰新月　**26.** Nieuwkoop 中心　**27.** Spemann 组织者　**28.** 内胚层　**29.** 后缘区　**30.** DNA

13 免疫系统

导　言

免疫系统(immune system)保护机体免受侵入细菌和病毒等病原体的侵害。它由许多不同类型的细胞和胞外分子组成。有些广泛存在于身体的**血浆**(plasma,血液中的液体部分)、淋巴和组织液中；有些则只存在于诸如胸腺、淋巴结和脾脏等免疫组织中。免疫系统的细胞和分子可以识别并破坏特定的外源物质(抗原)。

一个完全**抗原**(antigen;也称免疫原,immungen)就是任何一种可以引发免疫反应[例如,引起产生称为**抗体**(antibody)或**免疫球蛋白**(immunoglobulin)的蛋白质分子]的物质。脊椎动物中的**免疫反应**(immune response)可以定义为淋巴细胞对外源物质的特点和记忆做出反应的一种获得性的、可转移的能力。**淋巴细胞**(lymphocyt)是一类**白细胞**(leukocyte),可以通过细胞表面自我合成的受体识别特定的抗原。其他类型的细胞在免疫反应中通常起协助淋巴细胞的作用。

遗憾的是,并不是所有的免疫反应都是有益的。免疫系统通常是只对外源物质做出反应,但偶尔机体也会发动针对自身细胞或分子的**免**疫反应,从而导致**自发免疫疾病**(autoimmune disease),**超敏感**(hypersensitivity)或**过敏**(allergic)反应就是常见的一种针对环境中一些特殊物质,诸如花粉、有毒长春藤、某种化学物质、化妆品、染料和食品等的不舒服的免疫反应。但某些称为**过敏性反应**(anaphylactic reaction)的严重超敏感反应是有可能致死的。

免疫学是研究抗原、抗体和多细胞动物免疫系统细胞的科学。它的分支涉及到相当广泛的领域。历史上免疫学最初的研究是试图搞清免疫的机制。**免疫**(immunity)是与免疫原接触后发生的一种生理现象,有助于机体与包含有免疫原的病原体抗争。**血清学**(serology)是研究体内血浆和**血清**(去除凝集成分的血浆,serum)中可产生免疫物质的科学。(本书中血清学不作为独立的学科进行讨论。)**免疫化学**(immunochemistry)则集中研究抗原、抗体、细胞受体、细胞因子等的化学结构和彼此间的相互作用。**免疫生物学**(immunobiology)包括免疫的细胞学基础(免疫细胞学 immunocytology)、移植反应、**免**疫耐受、自发免疫性疾病、肿瘤的免疫学特征以及**免疫遗传学**(immunogenetics,在淋巴细胞群体中负责抗原受体多样性以及产生细胞表面个体识别惟一特征的遗传学机制)。本章将按顺序分成以下 5 个部分:**免**疫、免疫细胞学、免疫生物学(除去免疫细胞学和免疫遗传学的部分)、免疫化学和免疫遗传学。

免　疫

13.1　哪些分子最适于成为免疫原?

大型的、复杂的外源生物大分子,诸如蛋白质、糖蛋白、脂蛋白和糖类最适于成为**免**疫原。一个细菌细胞在其表面有许多不同的抗原分子。甚至一个单个的外源蛋白质分子也有大量的抗原位点,称为**决定簇**(determinant)、**抗原表位**(epitope)或**特异性**(specificity),每个位点都能刺激产生特定的抗体反应。

13.2　有两种主要的免疫反应:细胞免疫和体液免疫。细胞免疫有哪些特点?

细胞介导的免疫(cell-mediated immunity, CMI)或**细胞免**疫(celluar immunity)主要负责

对抗异体组织(移植体)和寄生物(例如霉菌、原生动物);细菌感染和病毒感染的细胞以及异常或肿瘤细胞。特定的CMI在实验中可以由在遗传上完全相似的一个个体通过一系列称为**T细胞**(T cell或T lymphocyt)的淋巴细胞在没有抗体协助的情况下转移至另一个体(例如在高度近交的大鼠或人类完全相同的双胞胎间)。

13.3 体液免疫有哪些特点?

免疫反应中的**体液**(humoral)由可溶性抗体和其他蛋白质组成。这些蛋白质主要负责防范胞外的细菌、毒素以及病毒感染的细胞外相。抗体可以在产生抗体的细胞不存在的条件下发挥作用。**B淋巴细胞**[B lymphocyt,也称B细胞;(B cell)]及其成熟体**浆细胞**(plasma cell)产生抗体,但抗体本身如果被转移至另一个体中是不能产生由细胞,如T细胞,承担的各种保护作用的。(如杀死病毒感染的细胞)。基于这些转化实验,尽管它们的产物(抗体)对于细胞产生CMI(例如,特定细胞通过称为NK细胞的淋巴细胞杀死外被抗体的细胞)的某些活性是至关重要的,但B细胞和浆细胞没有包括在CMI和免疫反应的体液部分中。大多数免疫反应是涉及免疫系统中细胞介导和体液免疫两方面的。

13.4 抗原特异性细胞和抗原非特异性细胞都参与了CMI。那么各自都包含有哪些种类的细胞呢?

在CMI中涉及到识别特定抗原的细胞称为T淋巴细胞(T细胞)。有的T细胞可以直接攻击并杀死病毒感染的细胞和肿瘤细胞;有的则协助B细胞和其他T细胞产生活性并/或增殖。

其他种类的白细胞(包括巨噬细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞和嗜酸性粒细胞)都是抗原非特异性的。其中有一些称为**抗原呈递细胞**(antigen-presenting cell, APC)通常是巨噬细胞,这些细胞可以攻击并消化各种各样的外源细胞和大分子物质;并将这一过程的残余装饰在自己的细胞表面,以此作为标记刺激T细胞和B细胞。

13.5 B细胞、浆细胞和它们的抗体之间是一种怎样的关系?

抗体是由初始B淋巴细胞(暴露于抗原之前)合成并作为抗原受体出现在细胞外膜表面。在和同源抗原接触之后,一个B淋巴细胞将被刺激最终分化成为一个浆细胞,浆细胞能分泌抗体分子进入血液或组织液。但是,大多数情况下,B细胞必须通过APC以适当的方式将抗原呈递给它们,还必须有一种或多种来自辅助T细胞的化学信号的刺激,才能使得B细胞分化成为浆细胞。

13.6 抗原和抗体是怎样结合的?这种结合将产生怎样的后果?

抗体是由B淋巴细胞和浆细胞产生的多链蛋白质分子。每个抗体特异地与其同源抗原通过非共价键钥匙-锁的形式结合,类似于酶和底物的相互作用方式。这种抗体与抗原的结合并不能直接的减少抗原。抗原的破坏通常是通过抗体强化吞噬作用(一种细胞现象)或抗体强化细胞溶解(通过补体系统可溶解分子的活性)来完成的。

13.7 什么是细胞因子以及在免疫反应中它们起到什么样的作用?

细胞因子(cytokine)是由各种类型细胞(包括血管内皮细胞、淋巴细胞和单核细胞)产生和分泌的以低分子质量为主的蛋白质(结构上与抗体不相关)。细胞因子调节免疫反应的强度和持续时间,但它们的作用被限制在它们产生的区域附近。如果细胞因子是由淋巴细胞或单核细胞/巨噬细胞产生的,那么它们分别称为**淋巴因子**(lymphokine)或**单核因子**(monokine)。注意,和抗体相比,大多数细胞因子并不直接攻击抗原引发免疫反应,但严重影响免疫系统其他细胞的活性(例如作为有丝分裂或分化的刺激因子)。

例 13.1

刺激特定种类血细胞增殖的细胞因子称为集落刺激因子(CSF)。由肝细胞产生的促红细胞生成素刺激红细胞在骨髓中的形成。巨噬细胞和成纤维细胞分泌粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和巨噬细胞集落刺激因子(M CSF);由抗原呈递细胞产生的白细胞介素-1(IL-1)活化了一类称为辅助 T 细胞的 T 细胞。某些辅助 T 细胞合成白细胞介素-2(IL-2),刺激所有活性 T 细胞增殖。γ 干扰素(一种二聚体)也是辅助 T 细胞产生的并能活化巨噬细胞。

13.8 抗体有助于防病的机制是怎样的?

大部分被抗体结合的外源细胞和物质通过多种途径被破坏掉。例如,一个外被抗体的细菌通常被血液、淋巴细胞内液、肝、脾和淋巴结中固定的或游走的吞噬细胞所吞入。抗体与抗原结合有助于减少抗原粒与吞噬细胞之间的静电推斥,从而加强吞噬作用。任何可以加强吞噬作用的物质定义为**调理素**(opsonin)。

抗体可以**凝集**(agglutinate)诸如细菌细胞的颗粒性抗原,延缓它们在机体中的扩散,通过使许多细菌被吞入吞噬小泡使得吞噬作用更为有效。

抗体同细菌毒素的结合将阻碍毒素同细胞受体的接触,从而**中和**(neutralize)它的毒害作用。细胞外病毒也通过抗体以类似的方式被中和。但抗体通常不能由细胞间液进入活体细胞内。一旦病毒或毒素已经进入细胞,抗体就不能通过胞膜去中和它们了。

某些可以激活胞浆蛋白的抗体统称为补体(complement)。补体活化涉及一连串蛋白质间的相互作用,从而导致靶细胞质膜上小孔或小洞的形成,最终使质膜溶解或**裂解**(lysis)。称为巨噬细胞的大吞噬细胞在其外表面有一类针对抗体(IgG)和补体系统中某些成分的受体。外被有这类抗体或补体因子的抗原就比那些没有此类分子的抗原更有效的被吞噬。因此,补体表现出了调理素的活性。

总之,抗体不能直接破坏抗原,但可以通过巨噬细胞和补体在诸如调理、凝集、毒素或病毒的中和以及细胞裂解等过程中实现这种功能。

13.9 免疫是如何建立和保持的?

免疫接种(immunization)是活化免疫系统的过程。其在生理状态下的结果称为免疫,也就是说更充分的准备帮助机体抵御特定病原体或其他外源入侵者(例如不匹配的血液或组织)。免疫系统对广谱抗原做出反应的能力可以遗传(并且个体之间可能有差异),但免疫反应本身只有在具备了针对某种抗原做出反应的遗传基础并和这种抗原发生接触之后才能产生。换而言之,这是一种获得性的反应。

当抗原以适当的方式呈递给了 B 细胞,同时 B 细胞也从辅助 T 细胞那儿收到了化学信号,那么 B 细胞就开始增殖,形成纯系细胞并以相同抗体作为细胞受体以识别相同的抗原。纯系细胞中的一部分分化成为抗体分泌型浆细胞。这些细胞通常在大量分泌抗体几周后就死亡了。而这些由浆细胞分泌的抗体将在几周或几个月中逐渐被蛋白酶降解。纯系细胞中的其他细胞部分分化(通过其免疫球蛋白基因重排)成为非分泌型、长寿的**记忆细胞**(memory cells),以备下次针对同一抗原做出更迅速、更广泛的应答,这就是记忆或再次应答,也被认为是"强化反应"或"**回忆应答**"(anamnestic,字面意思就是"不会被遗忘的")。

13.10 免疫可以自动地或被动地,自发地或人为地获得。什么是主动免疫?它是怎样获得的?

淋巴细胞通过抗原的刺激变成**敏化**的或接触过抗原的主动状态,并且通过抗体的分泌

和(或)淋巴因子产生应答。一个个体通过这种方式(通过自然接触病菌或人为接种)被敏化,也就是说获得了**主动免疫**(active immunity)。**疫苗**(vaccine)包含有死的或减毒(弱化)的微生物或是微生物的抗原组分,刺激免疫但不会致病。某些情况下,主动免疫是长期有效的,一次接种终生受益(例如脊髓灰质炎病毒疫苗);而有些情况,例如,破伤风,为保持有效的防卫要定期(通常大约每 5 年一次)加强接种。

13.11　什么是被动免疫?被动免疫是如何获得的?

敏化个体的血清中含有抗体,将这种血清转移到同种或不同种的另一个体内,那么这一个体就获得了**被动免疫**(passive immunity)。这种免疫形式既可以通过注射来自于另一生物体的抗体获得;某些抗体也可以通过自然传代由母体经胎盘传递给她的孩子。在人类及其他哺乳动物中,某些抗体是可以经母体的乳汁通过哺乳传递的。被动获得的抗体通常数周或数月后就被降解,使个体暴露在重新被被动免疫所要防止的病原体感染的危险中。

13.12　为什么个体之间对同一抗原产生的免疫反应各不相同,而且对于同一个体不同时期的反应也不尽相同?

免疫反应由于其通常直接对抗刺激该反应的外源抗原,因而是高度特异的。但对生物体保护的程度是大不相同的。由于某种尚不明了的原因,一些疫苗(或是自然界中的免疫原)产生的免疫反应是终生受益的(例如,脊髓灰质炎疫苗接种);而另一些接种(例如针对流感病毒的接种)则只能提供 1 年左右的保护。这种防护上的差别某些程度上是由于在最初与抗原接触时产生的某些记忆细胞相对较短的寿命所致。但是,如果抗原被以有规律的间隔(例如每年)反复接触,那么每次都"推动"免疫反应到一个更高的防护水平[**再次免疫反应**(secondary immune response)]。如果每回再次免疫反应都是有效的,那么被免疫个体将保持健康甚至都不会意识到曾与潜在危险的微生物接触过(亚临床感染是一种表面上没有疾病症状的状态)。相反,如果抗原许多年都没有被接触过,机体一旦接触而产生有效免疫反应的能力会随时间而削弱。这也许是因为相对短寿的记忆细胞的死亡。

由于大剂量的细菌毒素或病毒仍胜过了免疫防卫,所以即使是针对特定抗原有很好的免疫状态也不足以起到保护作用。在接种中抗原的剂量可以被精确的控制,但在自然感染中则会在很广的范围内变化。

身体的免疫系统在出生时并没有完全成熟。它们尚不能对各种成年人可以产生应答的免疫原产生反应。因此,婴儿在其生命的头几个月中通常依赖于从母体中获得的抗体。我们生命中的晚些时候,免疫系统倾向于弱化。这一事实至少可以部分解释为什么我们一生中开始和结尾的时期比其他时段更容易得肿瘤。

心理压力会对我们的免疫系统产生有害的影响。皮质类固醇是有效的抗炎剂,经常在医学上用作通过抑制免疫反应来延长移植组织的存活。皮质类固醇在压力条件下会过量产生,导致明显的淋巴细胞循环衰竭。

有些病毒,诸如引发流感的病毒或 AIDS 的病毒,似乎能够轻而易举地改变它们表面的分子(标记),使得(抗体和/或 T 细胞)针对这些致病抗原产生的反应不能长期有效。这些原因以及其他一些原因的存在使得由免疫系统提供的(针对同种抗原或不同抗原)各种防护在某一种族的不同个体或同一个体一生中的不同时期都是各不相同的。

免疫细胞学

13.13　主要的血细胞有哪几种?它们各自有怎样的功能?

红细胞由肺部携带氧气到各个组织中。白细胞防范病原体对机体的侵害。有 5 种主要类型的白细胞:淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞。淋巴细胞和单核细胞有球形细胞核并且胞质中缺乏明显的粒性结构。因此,它们被划分为单核白细胞或

无颗粒细胞。中性粒细胞和嗜酸性粒细胞都有一个多叶细胞核以及各种胞质颗粒，有的可以被染成红色（嗜酸性粒细胞）、紫色（嗜碱性粒细胞）或是由于颗粒很小而不易在光学显微镜下观察到（中性粒细胞）。因此，它们被划分为多形核白细胞或颗粒细胞。

B淋巴细胞产生可以识别特异性抗原的抗体；B和T细胞都产生可以在B、T之间或是对其他白细胞产生影响的淋巴因子。血液单核细胞（以及其相应的称为巨噬细胞的分化形式）非特异地吞噬外源颗粒，对于淋巴细胞来说起到了抗原呈递细胞的作用。中性粒细胞是最主要的吞噬粒性白细胞，但是不是抗原呈递细胞也不能起到刺激淋巴细胞的作用。嗜碱性粒细胞（将其相应称为肥大细胞的分化形式）参与了致敏反应。嗜酸性粒细胞的作用还不清楚，但它们在针对寄生物，如蠕虫的免疫中发挥了作用。嗜酸性粒细胞的吞噬性比较弱，嗜碱性粒细胞没有吞噬性。

13.14 具有主要功能的两类淋巴细胞：B淋巴细胞（B细胞）和T淋巴细胞（T细胞）在光学显微镜下不能从形态学上加以区分。那么这些细胞又为什么被称为B或T呢？

所有的血细胞包括淋巴细胞最初都是来源于骨髓中的多能干细胞（这个形容词"多能的"是用于形容那些有多种可能发展方向的胚性组织）。哺乳动物的B细胞不仅来自于骨髓也是在那儿成熟的。在鸟类中，最初B细胞成熟的淋巴器官是法氏囊，位于**后肠**（hind gut）和泄殖腔的连接处。命名为B是代表法氏囊和**骨髓**（bone marrow）。

另一类具有主要功能的细胞是T细胞。T细胞也是源于骨髓中的干细胞，但是成熟和学习识别异己的过程是在**胸腺**（thymus gland）中完成的（因而命名为"T"）。

13.15 B细胞和T细胞是怎样识别抗原的？

当B细胞从哺乳动物的骨髓或鸟类的法氏囊中释放出来是初始型或处女型细胞，还不能识别抗原，但可以产生抗体并把它们连到各自胞膜的外表面。一个B细胞的所有抗体都有共同的特异性（专一特异性）；例如，它们只和一类抗原决定簇发生作用。众多不同的B细胞识别不同的抗原。

T细胞所拥有的蛋白质分子可以在其质膜表面形成**T细胞受体**（T-cell receptor，TCR）以识别特定的抗原。在一个确定的T细胞上所有的TCR都一样，但同一个体中不同T细胞上的TCR却各不相同。T细胞不能产生抗体，但TCR也与抗体多少有所关联，因而也被划分为免疫球蛋白超级家族中的一部分。一旦T细胞被接触的抗原激活，就会合成并分泌称为淋巴因子（例如白介素）的蛋白质生长因子，从而影响其他T细胞、B细胞和抗原呈递细胞的活性。

13.16 在参与免疫反应前至少有三亚类T细胞在胸腺中发育。它们各自有哪些主要功能？

由**辅助T细胞**（helper Tcell，Th）生成的多种淋巴因子是B细胞、抗原呈递细胞和各类T细胞的刺激因子；而**抑制型T细胞**（suppressor T cell，Ts）对上述各类细胞产生抑制。因此辅助和抑制型T细胞被认为是**调节细胞**（regulatory cell）。T细胞的第三亚类识别病毒感染宿主细胞上的外源抗原、肿瘤细胞和外源移植细胞或组织，并通过产生和分泌称为**穿孔素**（perforin）的蛋白质在细胞膜上形成孔道，类似于补体蛋白的作用，从而破坏它们。种类细胞称为**细胞毒性T细胞**（cytotoxic T cell，Tc）、**细胞毒性T淋巴细胞**（cytotoxic T lympholyt，CTL）或**杀伤性T细胞**（killer T cell）。B细胞和T细胞是免疫系统的专一**效应细胞**（effector cell），可以通过它们表面的抗体附着抗原。Th和Tc细胞虽然有由同一基因簇编码的抗原受体，但不能识别抗原呈递细胞上同种的主要组织相容性分子（见13.17），并表现出了不同的功能。

13.17 什么是主要组织相容性复合体？它在抗原呈递细胞的功能中是怎样起作用的？

主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)是一染色体片段，包含有其蛋白质产物是主要化学信号的多个基因，而这些化学信号使得免疫系统的细胞可以彼此识别并能识别"自己"与"非己"。一旦要被处理的抗原被复合上了 MHC 分子，它们就可以以正确的方式在 APC 或 B 细胞表面呈现，从而刺激辅助 T 细胞释放淋巴因子(例如辅助 T 细胞信号)，进一步刺激其他淋巴细胞(包括 T 和 B 细胞)活化和增殖。这一辅助信号对于 B 细胞针对大多数抗原而产生抗体的反应以及长寿记忆细胞的产生都是首要的前提。

抗原呈递细胞(APC)包括血液单核细胞和组织中效应的形式(巨噬细胞)、淋巴组织中的树突细胞、胸腺上皮细胞和皮肤中的朗格汉斯细胞。这些 APC 非特异性地内吞抗原，并将其部分分解，然后将这一待处理抗原和 MHC 的自我识别糖蛋白分子一同展示在 APC 表面。实验中通过外源 APC(带有不同于本身受体的 MHC 分子)呈递给 T 细胞或 B 细胞的抗原不能刺激产生免疫应答。因此，每一个体在识别抗原时是有 **MHC 限制性的**(MHC restricted)只有在和自我 MHC 分子匹配时才能识别。

B 细胞可以通过它们细胞表面上的膜结合抗体特异性地与其相应抗原结合。经内化和抗原处理之后，B 细胞将这些待处理产物与 MHC 的蛋白质分子一同展示在自身细胞表面，刺激辅助 T 细胞释放淋巴因子(辅助 T 细胞信号)。对于 B 细胞的活化，B 细胞和辅助 T 细胞必须识别待处理抗原上同一分子的不同表位，即称为**联合识别**(associative recognition)的现象。B 细胞由于其易于接触抗原分子的表面以及其自然的疏水性，因而 B 细胞倾向于识别小的抗原决定簇。T 细胞则倾向于识别抗原被展示后的载体分子带有的中性疏水性残基。活化 B 细胞要有充足剂量的辅助 T 细胞信号，这些信号还要求 T 细胞与 B 细胞之间要紧密接触才行。

13.18 每个 B 细胞或浆细胞系都产生一种特异性的抗体，但在培养过程中都活不长。在实验中怎样才能使专一特异性抗体可能无限制地产生呢？

骨髓瘤(myeloma)是一种肿瘤，由一系列无限增殖的 B 细胞组成。这些细胞在培养中无限增殖。但是，有些骨髓瘤细胞自身不能产生抗体。在小鼠体内 B 细胞经一特定抗原免疫活化后，将脾脏切除。把脾细胞与骨髓瘤突变细胞系融合，形成称之为**杂种瘤**(hybridoma)的，可无限增殖杂种。其中有些就可以分泌我们感兴趣的**单克隆抗体**(monoclonal antibody)。在筛选杂种细胞的选择培养基中含有一种抑制剂(氨基蝶呤)，它可以阻止核苷酸合成的正常途径，因而迫使 B 细胞通过替代(补救)方式合成核苷酸。这种被选择的突变骨髓瘤细胞系本身缺乏这种利用替代途径的能力，只有在和 B 细胞形成杂种细胞后才可以。所以，在选择培养基上只允许杂种细胞长期生长。每一个杂种瘤细胞系都要测定其产生目的抗体的能力。其中可以产生目的抗体的细胞系就可以在普通生长培养基上进行无限制的传代。

免疫生物学

13.19 T 细胞和 B 细胞是如何识别"自我"与"非己"，从而避免攻击宿主生物自己的其他细胞？

T 细胞和 B 细胞的发育由一个特殊的遗传系统控制，使得上百万不同种类的抗原受体被合成出来(B 细胞上的抗体；T 细胞上的 T 细胞抗体)，这些受体中有些可以识别自身抗原。有的理论认为，在胚胎发育的时候，初始 T 和 B 细胞在主要淋巴器官中(骨髓、胸腺)与高浓度的自身抗原相接触，导致自我反应细胞系死亡[其结果是**克隆缺失**(clonal deletion)]或变成免疫无应答[其结果是**克隆无反应性**(clonal anergy)]，只剩下没有自身抗原受体的淋巴细胞。

因此，宿主获得了自身抗原的**自然免疫耐受**(natural immunological tolerance)。另一理论提出针对自身抗原的免疫或是耐受也可以在淋巴细胞成熟过程中被诱导产生。当B细胞或T细胞与抗原结合而且也从Th细胞或APC处收到了信号，那么免疫就会被诱导。但如果抗原在没有Th细胞信号的情况下被识别，自我耐受就被诱导(例如通过克隆缺失)。

胸腺中被认为有2种T细胞受体的选择。缺少可以识别自身MHC分子表面受体的胸腺细胞将执行程序性细胞死亡[**凋亡**(apoptosis)]。结合有自我MHC分子的胸腺细胞或是和自我MHC分子形成自主抗原复合物的胸腺细胞将被淘汰，只剩下有自我耐受性的自我限制性胸腺细胞。

☞例 13.2

异卵双生牛通常是由2个不同的受精卵发育来的，因此成年后彼此本不应该耐受相互间的皮肤移植。但实际上却是可以的。原因就是它们的胎盘和血管通常是融合的，允许它们在生命的早期进行血细胞的交换，这使得双胞胎中每个个体的细胞标记都被视为自我抗原。

☞例 13.3

免疫耐受也可以在实验中通过给一个品种的新生幼鼠注射来源于另一不同品种新生幼鼠的非成熟淋巴细胞而被诱导产生。在发育的这一阶段，受体方的免疫系统将学习把移植细胞上的抗原视作自我抗原，而且当供体品种成为免疫活性成体时，受体方将可以耐受来自于同一供体的皮肤移植。但是，即使实验中耐受性的诱导延迟几天，到那时这种机会的窗口已经关闭，就太晚了。这种动物以后再也不会耐受外源细胞了。

偶尔自我抗原耐受性缺失，导致T和(或)B细胞对自我组织的抗原产生抵抗反应，从而导致**自发免疫性疾病**(autoimmune disease)的产生。

☞例 13.4

患重症肌无力时，患者针对自身骨骼肌上的乙酰胆碱受体产生了抗体。从而阻断了神经递质的作用，导致肌肉衰竭，如果呼吸被影响，还可能引起死亡。

13.20 在免疫活性个体中，外源抗原是如何刺激特定免疫应答的(例如在某个体直接接触抗原时)?

免疫系统在不断地产生遗传上不同的淋巴细胞新群体。每一个T和B细胞系遗传上只应针对一种抗原决定簇做出应答。当外源抗原通过一个APC呈递后，只有那些携带正确抗原受体的T和B细胞可以识别它。因此，抗原由众多淋巴细胞系中选择那些可能被活化、被刺激分化并产生增殖的细胞系。这一过程被称为**克隆选择理论**(clonal selection theory)。

一个抗原和淋巴细胞受体的结合活化了细胞，使其增殖成为一个完全相同的细胞系。细胞系中的每个成员一般都会针对惟一种类表位的同种抗体。B细胞系中的某些成员将成熟为抗体分泌型浆细胞，其他成员则变为长寿记忆B细胞。T细胞系存在相似的过程，它的某些成员被活化并释放淋巴因子，另一些则作为记忆细胞保持钝化。

13.21 为什么一个特定的免疫应答是多克隆的?

外源蛋白质是最佳的抗原。但大的外源分支型多糖通常也是好抗原。甚至小型糖链(寡

糖)或单糖,如果联上一个大型外源多肽或蛋白"载体"分子(例如 ABO 血型系统中的抗原),都能刺激免疫应答。一个单个的免疫原蛋白分子一般都含有多表位,每个表位都能作为不同的抗原决定簇由不同的淋巴细胞系刺激产生免疫反应。因此,动物个体针对单一一种外源蛋白质分子或外源细胞(展示在其细胞表面的不同外源复合抗原的聚合)所做出的免疫反应通常是**多克隆**(polyclonal)的。例如,许多不同的淋巴细胞系面临着每一细胞系都要识别不同的表位的挑战。甚至于一个免疫原的单一表位也能刺激一个多克隆的应答。某些淋巴细胞系带有的受体,通过众多非共价键作用的总和与决定簇有**高亲和力**(affinity),牢固结合。这些受体(T 细胞受体或膜结合型受体)的抗原结合区称为**互补位**(paratope)。带有高亲和力互补位的细胞比带有亲和性较弱的细胞在针对同一表位时要生成较大的细胞系。

13.22　什么是亲和力突变?

在免疫反应初期,当抗原浓度较高时,针对某一表位产生反应的所有细胞系的互补位平均亲和力都相对较低。但随着时间的推移,抗原浓度降低,少数针对表位有较大亲和性的细胞系比其他更高效的再生,所以大多数活化细胞都有较高亲和性。免疫反应期间受体平均亲和力随时间增加称为**亲和力突变**(affinity maturation)。当新受体生成并通过以再现、依次感染或反复免疫(强化刺激)等方式一再暴露给同一抗原来加以选择时,亲和力突变也可以发生在一个较长的时间段里。

13.23　为什么有些外源分子(分子的某一部分)不能刺激产生一个免疫应答却能成为抗体的靶目标?

由球蛋白表面产生的抗原决定簇相对于那些分子内部的受体更易于与淋巴细胞受体接近。如果这些暴露的表位也能够刺激一个强免疫应答,那么它们就成为这个分子的**免疫显性**(immunodominant)位点。分子质量比 10 000Da 小的外源小分子(诸如单糖或氨基酸),一般不是免疫原;例如,它们不能靠自己激发一个免疫反应。这类分子称为**简单抗原**或**半抗原**(hapten)。但半抗原可以通过人为的使它们与一个较大的**载体**(carrier)分子,诸如蛋白质,配对而成为免疫原。如果载体分子也是外源的,免疫反应就可能产生各种抗体,其中有些只针对半抗原的表位,有些只针对载体的表位,还有些也可能两者都能识别一部分。

13.24　当免疫反应不再被需要时是如何调节的?

分泌的抗体与抗原的结合阻碍了抗原与 B 细胞上膜结合抗体的结合,也阻碍了抗原与 T 细胞受体的结合,因此干扰了活化更多 B 和 T 细胞以及继续刺激浆细胞分泌抗体至关重要的信号。当抗原从机体里清除之后,分泌相应抗体的浆细胞经历细胞程序性死亡,只剩下非分泌型记忆细胞等待下次暴露于同一抗原。如同许多可溶性蛋白质,分泌的抗体分子生命有限,在几周或几个月之后就会被蛋白酶破坏。

一个抗体分子上的每一个抗原结合位点(互补位),通常含有多表位——称为**独特位**(idiotop)。它们可以通过同一个体其他 B 细胞上的某些膜结合抗体被识别。免疫球蛋白分子的**独特型**(idiotype)是其个体独特位的总和。T 细胞受体有它们自己的独特型。免疫反应中抗原浓度是主要的调节因素时,就会涉及到抗体独特型和 T 细胞独特型之间的相互作用网络。一个浆细胞系释放上千个专一性抗体分子。某些其他 B 细胞似乎有能够识别这些可溶性专一抗体分子独特型的膜结合抗体,从而引起这些细胞释放抗独特型抗体。有些这种抗独特型抗体能够和可溶性抗体互补位外的独特位发生作用,而另一些可以与互补位的独特位发生作用。后一种抗独特型分子将是免疫原的内像。抗独特型可以被产生抗抗独特型的 B 细胞识别,依此类推。通过 B 细胞和 T 细胞的每一级反应将会逐级弱化,因此整个系统是自我削弱的。目前尚不知道独特型网络是如何刺激或抑制免疫反应的。据推测抑制型 T 细胞可能通过在辅助 T 细胞上与独特型发生作用而间接的减轻免疫反应。

免疫化学

13.25 典型的免疫球蛋白分子具有什么样的结构特点?

典型的免疫球蛋白分子(Ig)沉降系数大约7S,分子质量150 000Da左右。Ig是一个异源四聚体,含有2条相同的**重链**(heave chain, H chain),每条大约50 000Da,由440个氨基酸组成;以及2条相同的**轻链**(light chain,L chain),每条大约25 000Da,由212个氨基酸组成。Ig的外形看上去像字母Y(图13-1),尾部或Y的柄由2条相同重链的羧基部组成,两部分由共价二硫键以及氨基酸侧链间众多相互作用的非共价键结合在一起。

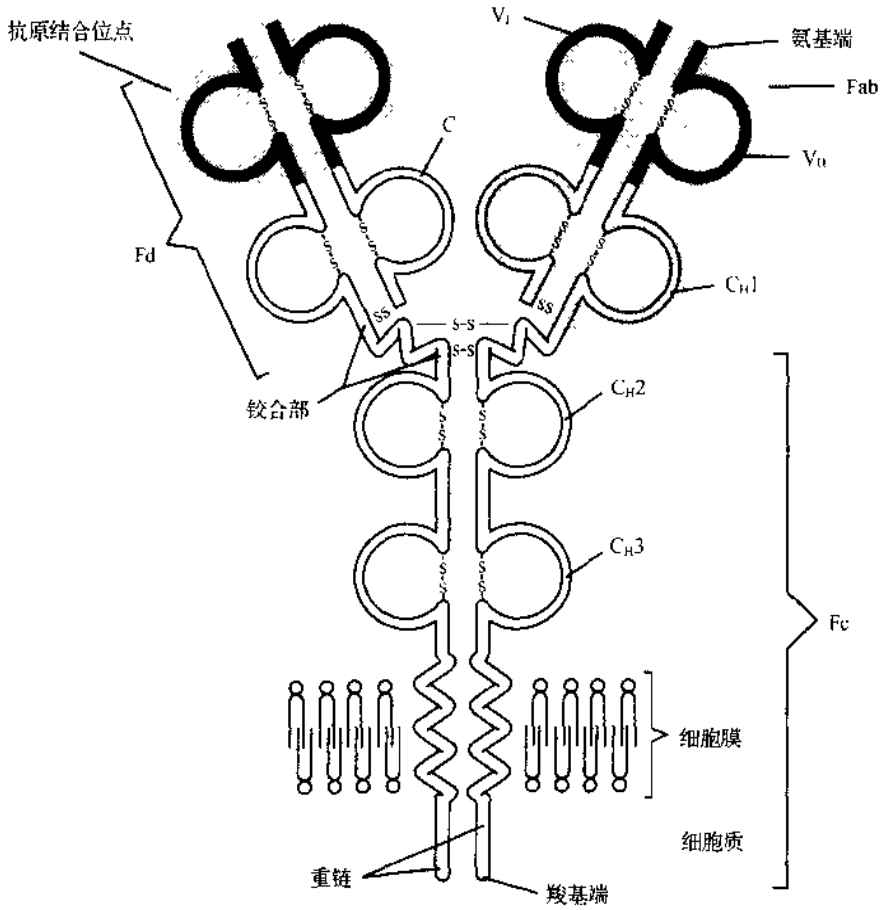


图13-1 7S免疫球蛋白分子示意图。

13.26 免疫球蛋白是如何分类的?有多少种免疫球蛋白?

共有5种主要的免疫球蛋白,记为IgM、IgG、IgA、IgE和IgD。这些免疫球蛋白分子的重链分别相应地记为γ、μ、α、ε和δ。一类免疫球蛋白中,每个Ig分子重链**恒定区**(constant region)的氨基酸顺序是相同的。一个物种的免疫球蛋白如果注射给另一物种,就相当于一种抗原,会引发受体方产生针对这种外源抗体的自身抗体。每种免疫球蛋白是根据在血清学试验中与抗免疫球蛋白的作用来定义的。

13.27 描述一下在抗原结合中不发挥作用的重链主要结构区。

IgG、IgA和IgD的重链恒定区共有3个恒定域(C1、C2和C3),而IgM和IgE则有4个这种恒定域。在一类免疫球蛋白中,所有恒定域都有同源的氨基酸序列。每个域含有一对链

内二硫键。这种各区域间的分子同源性暗示它们的结构基因是通过复制同一祖先并且已经在某些氨基酸位点上发生了序列突变进化来的。在 C_H1 和 C_H2 两区之间是一个**弹性铰链区**(hinge),使得 Y 结构的两臂可以形成各种角度(图 13-1);重链 μ 和 ε 没有铰链区,但在其中心含有一个额外的恒定域。

13.28　参与抗原结合的重链和轻链有什么样的结构特点?

如果 Ig 分子是由不同的 B 细胞合成的,那么这些 Ig 分子彼此间重链的氨基端头 65 个氨基酸顺序各不相同。但由一个完全分化的浆细胞系合成的 Ig 分子在各方面都是一致的,它们是单克隆抗体(mAb)。重链氨基端发生变化的区域称为**可变区**(variable region, V_H)。与重链相似,轻链在氨基端有惟一一个可变区(V_L),但在羧基端也只有一个恒定区(C_L)。抗原的结合是由 3 个位于免疫球蛋白分子中 V_H 和 V_L 内的较大范围的**超变区**(hypervariable region)限制的。超变区就是所谓的**互补决定区**(complementarity-determining region)。因为相应抗体上的抗原结合位点(互补位)和抗原上的表位(抗体结合位点)是互补结构(通过形成较弱的非共价键或次级键)。总体上超变区占了重链和轻链上可变区的 15%～20%。在 V_H 和 V_C 片段中的所有其他区域都称为**结构区**(framework region)。重链的 V_H 和 C_H1 段构成了**Fd 区**(Fd region),它是重链上与轻链相对应的部分。轻链是通过二硫键在 C_H1 和 C_L 区与重链共价相连的。重链和轻链的其他部分则是通过众多非共价方式相联系。轻链和重链的可变区是通过形成某种可以使抗原以钥匙-锁的方式相配合的凹坑或口袋彼此联系的。因此免疫球蛋白分子的每个臂都有同样的一个抗原结合区,即 Y 形7S 免疫球蛋白是双价的(有两个结合位点),甚至是个很简单的蛋白质(仅由一个氨基酸构成)。

13.29　在免疫球蛋白分子中都有哪几种轻链?

按照各自的恒定区划分共有两类轻链:κ 和 λ。在同一个 Ig 分子中,5 类重链中的任何一种都可能遇到轻链的两种类型之一。通常由一个确定的浆细胞产生的所有免疫球蛋白都是完全一样的结构,都有两条一样的重链和两条一样的轻链。因此,Ig 分子可以表示为 $2\lambda2\gamma$,$2\mu2\kappa$ 等。

13.30　用木瓜蛋白酶消化一个免疫球蛋白分子会产生什么后果?

蛋白水解酶木瓜蛋白酶在 C_H1 和 C_H2 之间的连接处降附近解 Ig 分子,形成两个 Fab 分子(抗原结合片段,fragment antigen-binding)和一个可以被结晶的片段(因为它有单一的氨基酸序列),记为 Fc(可结晶片段,fragment crystalizable)。Fc 片段由 2 条重链中除了 C_H1 外所有 C_H 区所构成的羧基端部分组成。这 2 条链通过二硫键在铰链区附近相互结合(图 13-1)。

13.31　从初次反应到再次反应的过程中,由 B 细胞系产生的抗体是怎样变化的?

由所有处女型 B 细胞最先形成的是抗体中的 IgM。膜结合型的 IgM 分子是初次免疫反应的抗原受体。是由浆细胞分泌的第一种抗体。然后,同一浆细胞还可分泌其他类型的抗体(如 IgG)。这些抗体所带有的轻链和轻链及重链上的可变区是相同的。因此,在一个 B 细胞或一个浆细胞的一生中,抗体的抗原结合位点(互补位)是永远不会改变的。**重链转型**(H-chain class switching)只涉及到重链的恒定区。IgM 的分泌形成实际上是由 5 个在各自羧基端经二硫键共价结合在一起的类似 7S 的分子加上一个称为 **J 链**(J chain)的单多肽链组成的。因此,每个分泌出的 IgM 分子都有 10 个潜在的互补位或说 **10** 价(valance)。

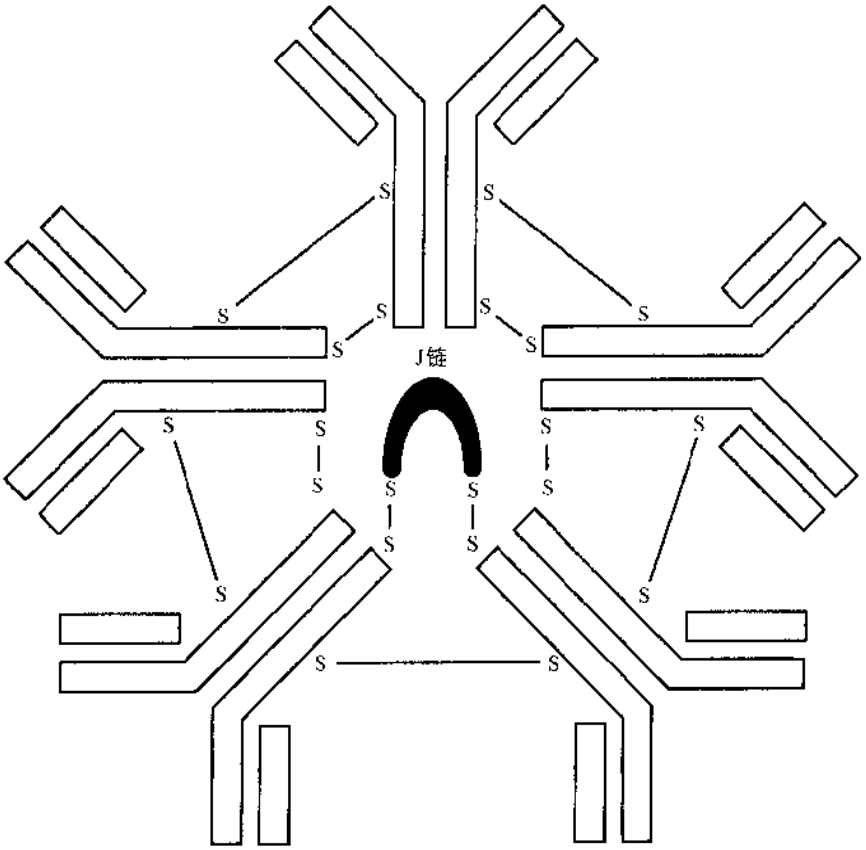


图 13-2 19S 五聚体 IgM 分子示意图。5 个类似 7S 的单体由二硫键(S--S)和 J 链结合在一起。

13.32 除了与特定抗原结合,IgG 分子还有哪些功能?

在再次免疫反应中主要是 IgG 这类抗体(大约占 75%)。抗体中只有这类可以通过胎盘,因此,在婴儿血液中所有来自母体的抗体都是 IgG 这一类;其他类型的抗体是由婴儿自己的免疫系统产生的。分泌的 IgG 和 IgM 都可以活化补体,但按一摩尔算 IgM 要比 IgG 高效得多。巨噬细胞和中性粒细胞都有针对 IgG 分子 Fc 柄的细胞表面受体。与巨噬细胞相比称为中性粒细胞的淋巴细胞不能发挥如抗原呈递细胞的作用。IgG 抗体的柄部由非共价作用与 APC 结合在一起,当抗原- IgG 复合物形成时,这些细胞将吞噬这一复合物并破坏(中性粒细胞)或加工(巨噬细胞)抗原。抗原残余与 MHC 分子一同展示在巨噬细胞表面。这种复合物还刺激辅助 T 细胞提供启动有丝分裂及特定 T 细胞和 B 细胞分化成记忆细胞和效应细胞必需的淋巴因子。

13.33 IgE -抗原复合物将引发什么样的生物学反应?

血液中的嗜碱性粒细胞和组织中的相应形式(肥大细胞)都有针对 IgE 分子 Fc 柄的细胞表面受体。当抗原- IgE 复合物在这些细胞上形成时,就可以刺激其他胞浆粒子(脱粒)胞吐到细胞外液中。组氨酸储存在这些粒子中,它的释放将引发支气管平滑肌收缩,鼻黏液分泌,皮肤神经末梢兴奋以及其他过敏反应或敏化反应的表现。这些粒子也含有一趋化因子,可以活化称为嗜酸性粒细胞的其他这类的细胞,攻击多种寄生虫,尤其是那些包被有 IgG 抗体的。

13.34　IgA 和 IgD 有什么功能?

在机体各种分泌物(乳汁、唾液、眼泪、呼吸及肠道分泌物)中的抗体是 IgA。这种免疫球蛋白分子以 7S 单体或二聚体的形式存在。二聚体是由 J 单链(由浆细胞产生)和称为**分泌片**(secretory piece,或称分泌成分),由嗜酸性粒细胞产生的与 IgA 分泌相关的链联接两个单体形成的。这里的 J 链与 IgM 中聚合 7S 形单体形成五聚体的是同一种 15kDa 多肽。针对 IgA 分子 Fc 区的受体位于嗜酸性粒细胞的非腔面上,这类嗜酸性粒细胞在肠道、支气管及乳汁等分泌物,唾液和眼泪中随处可见。当 IgA 分子和这些受体通过柄部结合后,就和免疫球蛋白分子由母体进入胎儿血液的方式一样,由胞外液被转移入嗜酸性粒细胞内。

IgD 分子只出现在早期的初始 B 细胞,但没有发现生物学功能与它们相关。

13.35　什么叫补体系统?

补体是指一组 9 种主要蛋白质(C1～C9)和其相同数量的调节蛋白。大多数补体蛋白的表现通常与个体的免疫状态无关。补体蛋白是由肝脏产生的在血液和组织液中循环。

13.36　补体系统是怎样被激活的?

活化补体系统有 2 种途径:**经典途径**(classical pathway),即由 IgG 或 IgM 参与的抗原-抗体复合物活化;**替代途径**(alternate pathway),也就是由侵染细菌表面的单糖激活。两种途径都由可从前体物种活化成酶活性状态的一系列酶原组成。在传统途径中活化的顺序是 C1→C4→C2→C3→C5,6,7,8,9。补体的各成分是依据它们被发现的顺序编号的,而不是它们被活化的顺序(C4 是惟一的例外)。每一步中酶原都被割裂成 a、b 两部分,大的部分为 b。较大的片段通常与最近的膜结合,并被立刻转成该途径中的下一成分或是变为永久性的钝化状态。该途径最终以 C56789 **膜攻击复合物**(membrane attack complex)的形式在细菌的外膜或细胞膜上开一个孔,导致渗透性细胞裂解。

13.37　经典的和替代的途径在活化补体上有什么不同?

经典活化途径抗原必须与一个以上的抗体结合。因此,以这种途径启动补体级联反应必须在细胞膜上有一丛抗原-抗体复合物。而替代途径直接由微生物细胞壁上的多糖活化,不需要抗体的协助,从而在补体反应发生前提供了第一条防线。C3 不稳定,可以自发分裂成 C3a 和 C3b。C3b 可以与细菌细胞壁、酵母细胞壁、某些病毒外壳和一种称为 B 因子的血清蛋白结合。C3b 活化 B 因子,B 因子再活化另一血清蛋白 D 因子。D 因子分裂结合有 B 因子的 C3b 为 Ba 和 Bb 两组分。C3b(Bb)复合物与经典途径中的 C4b2b 有同样的功能,只不过要是没有血清蛋白备解素与之结合,使它稳定的话,它就会很快降解。从这一角度讲,经典和替代途径是一样的。一种特殊的抑制剂蛋白(H 因子)与 B 因子竞争在 C3b 上的结合位点。微生物细胞壁上的多糖某种程度上防止了 C3b 被 H 因子钝化,使得 B 因子有机会与 C3b 结合并完成其余的活化过程。经典和替代途径在活化和抑制上都比在这里讲到的复杂得多。

13.38　补体除了裂解细胞还有什么功能吗?

有些小片段(尤其是 C3a 和 C5a)可以引起平滑肌收缩并刺激肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放组胺。这种化学物质增加局部血管的渗透性,促进更多的补体、抗体和淋巴细胞进入感染的区域。吞噬性中性粒细胞经 C5a 的趋化活化聚集在这一区域。巨噬细胞有针对某些细菌上活化膜结合补体蛋白的膜表面受体,因而使其集中到这些微生物周围。这些调节性补体成分都是主要的产生炎症反应的因素。

13.39　T 细胞上的抗原受体是一种怎样的结构?

T 细胞受体(T-cell receptor, TCR;图 13-3)是有两种存在形式的异源二聚体(由 2 条不

同的多肽链组成)。最常见的形式(超过95%)是由一条40kDa的α链和一条43kDa的β链组成;比较少见的形式是由一条γ和一条δ链组成。每条链在其氨基端都有一可变区;紧接着一个恒定区,即一个使得TCR锚定在质膜上的疏水区;以及一个羧基端的亲水区。V_α和V_β区合在一起形成抗原结合区(互补位)。TCR与一系列称为CD3复合物的多肽链通过物理方式连在细胞膜上。CD3复合物含有5个肽,被认为参与TCR-抗原复合物到细胞内的信号传递。**CD**代表**分化簇**(cluster of differentration、簇决定因子、簇标识),指一系列表面蛋白质抗原(称为标记),在发育和/或活化的各个阶段依据这些抗原的有无来区别不同的淋巴细胞亚类。识别一特定细胞群体的CD分子是由一组(簇)单克隆抗体证明的。有些标记属于不止一簇决定因子。CD标记有多种功能,例如启动细胞内相互作用,导致淋巴细胞活性的信号转导等等。

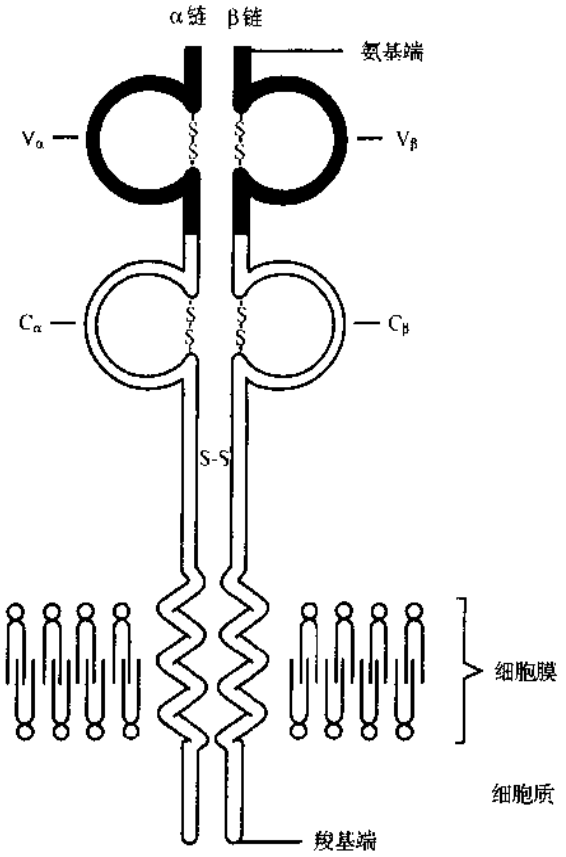


图13-3 T细胞受体示意图。

例13.5

成熟人类T细胞带有抗原1和3($CD1^+3^+$),成熟辅助T细胞或诱导T细胞带有簇4($CD4^-$),而抑制型T细胞和/或细胞毒素T细胞则表示为$CD8^+$。人类B细胞是CD19~22阳性。

13.40 主要组织相容性复合物(MHC)可以产生哪几类分子?

MHC编码3类分子,记为Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ。Ⅰ和Ⅱ类基因的产物都是定位在细胞表面的糖蛋白,Ⅲ类基因编码某些补体系统蛋白质以及两种称为肿瘤坏死因子(TNFα和TNFβ)的细胞因子。巨噬细胞是TNFα的主要生产者,某种特定T细胞则生产大部分TNFβ。

13.41　试述Ⅰ类 MHC 分子的结构。

Ⅰ类 MHC 分子(图 13-4a)是异源二聚体。α 链是大约 345 个氨基酸的糖基化膜蛋白，由人类 6 号染色体上的一个 MHC 基因编码。15 号染色体上的一个基因(不是 MHC 成员)编码不变结构中其他较小的(96 个氨基酸)非糖基化多肽部分，称为 β_2 微球蛋白。一条 α 链和一个完整的胞外 β_2 微球蛋白链由非共价键相连组成Ⅰ类 MHC 分子。α 链在氨基端有 3 个胞外球形区与一个疏水跨膜结构域相连，羧基端还有一个胞质结构域。α 链氨基端的前两个结构域含有多态(可变)残基，可以被细胞毒素 T 细胞受体在组织移植反应中杀死以及被胞内寄生感染的宿主细胞时作为抗原识别。

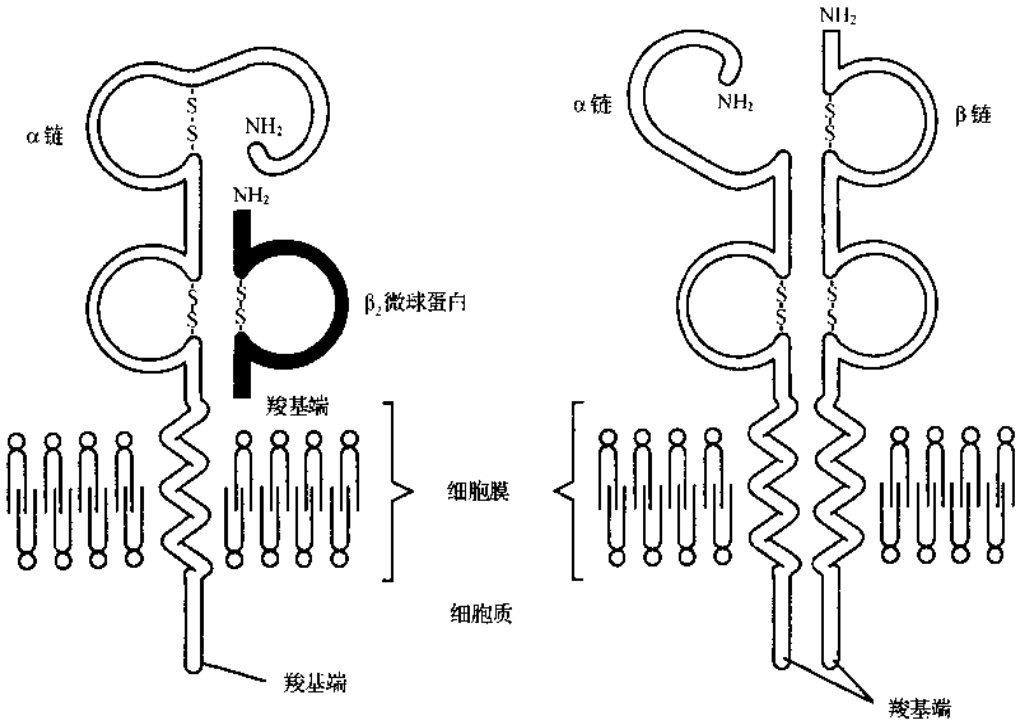


图 13-4　主要组织相容性复合体糖基化蛋白的Ⅰ类(a)和Ⅱ类(b)分子。

13.42　Ⅰ类 MHC 分子存在于什么地方?

Ⅰ类 MHC 分子可以在所有具核的细胞中发生。在成熟哺乳动物红细胞(红细胞没有核)中不存在，这就是为什么当给患者输入外源红细胞时不表现出 MHC 的分类和匹配。也是为什么除了红细胞外，在移植的供体和受体中要由单克隆抗体把与Ⅰ类抗原匹配的淋巴细胞分类验明。细胞毒素 T 细胞(带有 CD8 分化抗原)只有在被呈递给处于Ⅰ类自主 MHC 分子这种情况的细胞时才识别外源抗原(双重识别)。这些细胞因此叫做被 **MHC 类别Ⅰ限制的**(MHC class Ⅰ restricted)。

一些称作**裸细胞**(null cell)的淋巴细胞既没有表面免疫球蛋白也没有 T 细胞受体，所以不是 B 细胞也不是 T 细胞。裸细胞是大型颗粒淋巴细胞(LGL)。LGL 的胞质颗粒中含有一个孔型蛋白质、细胞毒素、酯酶和蛋白聚糖。LGL 用这些成分杀死移植细胞，肿瘤细胞和首次接触的病毒感染细胞，因而被称作**自然杀伤细胞**(natural killer cell，NK)。杀死表现出自主Ⅰ类 MHC 分子的细胞将抑制 NK 细胞，但杀死缺乏或表现出 MHCI 类分子减少的细胞不能起到抑制作用。由于 NK 细胞的杀伤行为发生在没有 MHC Ⅰ类分子的情况下，所以 NK 细胞并不是 MHC 限制性的。NK 细胞用和细胞毒素 T 淋巴细胞(CTL)相同的机制杀死靶细

胞，例如，通过胞吐作用和在靶细胞中诱导 DNA 降解及编程性死亡等机制。NK 细胞有针对免疫球蛋白（IgG 类）尾部或柄部的表面受体，因此可以识别并且在**抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用**（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，ADCC）的过程中，不用 MHC 分子或补体分子的参与，杀死外被这类抗体的细胞。

13.43 Ⅱ类 MHC 分子的结构是怎样的？

Ⅱ类 MHC 分子（图 13-4b）也是异源二聚体糖蛋白，由一条 α 链（与Ⅰ类的 α 链不同）和一条 β 链（与 T 细胞受体的 β 链不同）组成。这两条链几乎一样长。每条链在氨基端都有一个可变区，接着是另一个胞外区，疏水性跨膜结构域，以及羧基端的一个胞质区。每条链上的两个胞外区结构类似于免疫球蛋白；Ⅰ类分子的 α 链胞外区和 β_2 微球蛋白链的一个区也很相似，这暗示了它们都是由同一个祖先基因进化来的，而且现在是一个包括了抗体、T 细胞受体、MHC 糖蛋白、细胞间黏合蛋白（CD2、CD4、CD8）、某些与 T 细胞受体联合的 CD3 复合物多肽链以及淋巴细胞上的 Fc 受体和其他淋巴因子超级家族的成员。Ⅰ类和Ⅱ类 MHC 分子的**多态区**（polymorphic）即在个体间存在差异的区域，和外源抗原相互作用，但它是一个 MHC 分子和由 T 细胞受体识别的外源抗原的复合物（双重识别）。在其质膜上有 CD4 的辅助 T 细胞记作 $CD4^+$，称为被 MHCⅡ类限制的。

13.44 Ⅱ类 MHC 分子存在于哪些地方？

Ⅱ类 MHC 分子主要存在于抗原呈递细胞（巨噬细胞、树突细胞、B 细胞、胸腺嗜酸性粒细胞），同时也参与适当形式的抗原呈递，以刺激 $CD4^+$ 辅助 T 细胞。

免疫遗传学

13.45 免疫球蛋白基因的结构是怎样的？它们位于人类基因组的什么地方？

免疫球蛋白基因是当 B 细胞由哺乳动物骨髓中的干细胞分化发育阶段分散的基因片段（小基因或组件）组合而成的。编码人类免疫球蛋白分子的小基因家族定位在 3 条染色体上：①重链家族位于 14 号染色体上；②κ 轻链家族在 2 号染色体上；③λ 轻链家族位于 22 号染色体。每个轻链家族都有多达几百个片段编码轻链可变区，一个片段编码轻链恒定区。在轻链 V 和 C 片段之间，有一个 5 个短 J 片段（J 代表 joining）集合的小区，其中有十几个氨基酸参与 V 区的羧基端构成。间隔 DNA 存在于 V 和 J 区之间和 J 区与 C 区之间。重链家族的重排方式与此类似，只是在 V 和 J 区之间附加了一组 20 个短的小基因，参与重链的可变区的多样性（因此记作 D），另外 C 区至少有 5 个小基因。

13.46 完整的免疫球蛋白轻链是如何组装并转录的？

B 细胞分化期间，位点特异性结合减少，位于 V 区之一和 J 区之一之间 κ 轻链的一部分基因随机出现。例如，在图 13-5 中，位于 V3 和 J2 之间（不包含）的 DNA 序列被切除，使得 V3 和 J2 相邻，转录只有在这一基因重排发生后才开始。可能是由于这种变化能使其成为更强的序列（在同一 DNA 分子上可被限定在几百个氨基酸大小），进而促使 RNA 聚合酶结合到选中的 V 区启动子上。转录总是起始于 V 基因与 J 基因紧密相邻的地方。在我们的例子中，初级转录物含有 V3 区，所有剩余的 J 区（包括由 J2 到 J 区结束），J 区和 C 区中间的间隔以及 C 区本身。在转录的加工过程中，mRNA 剪接去掉了所有重排后 V3J2 复合体与 C 区之间的 J 区和间隔。因此从核中释放出来的成熟 mRNA 就只有一个 V 区、J 区和 C 区。在小鼠中一条轻链有大约 300 个 V 区，4 个 J 区和一个 C 区。λ 轻链的合成除了有 4 个 C 区外，其他都是按同一种规则进行的。

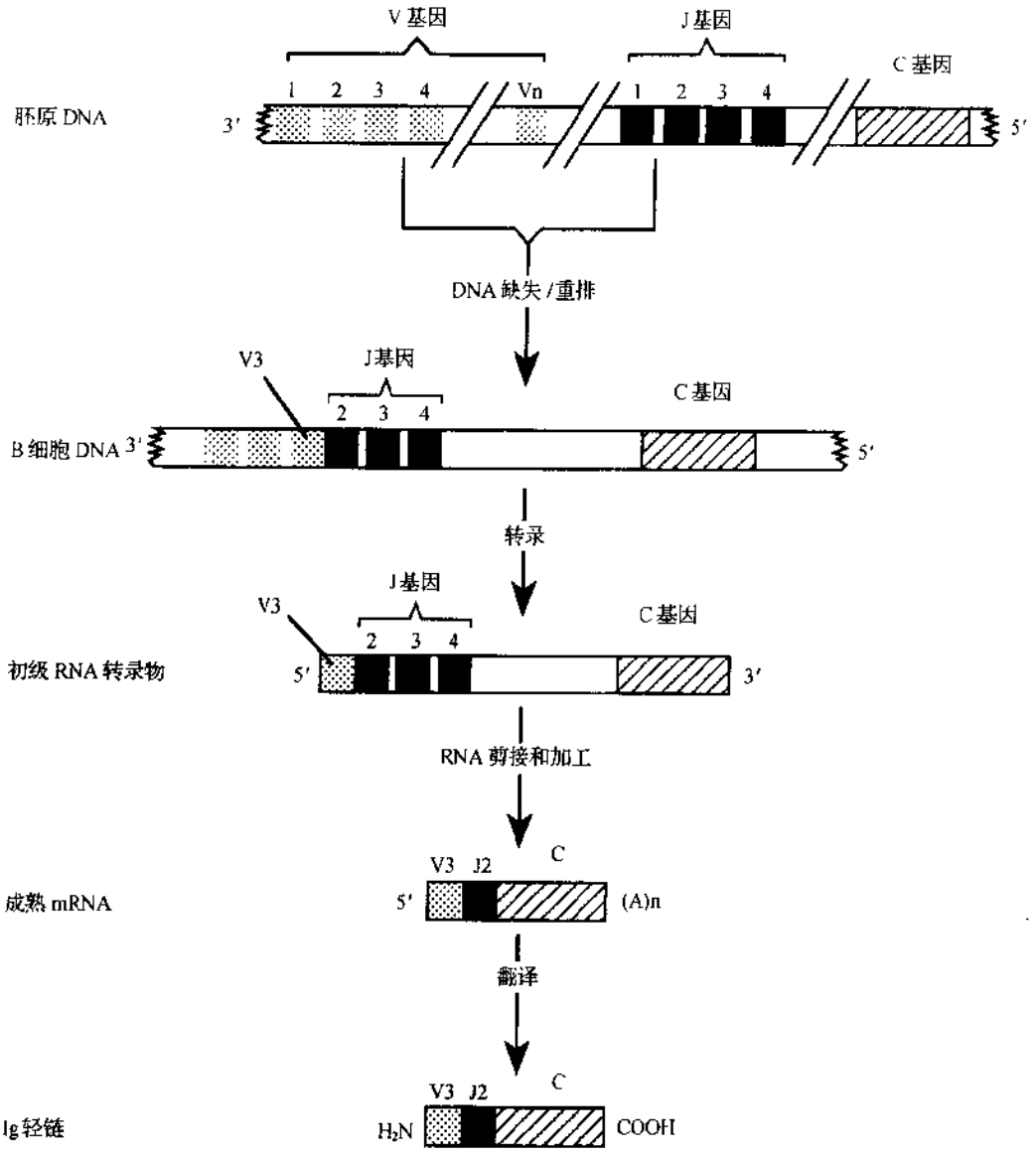


图 13－5　编码 κ 免疫球蛋白轻链的模板构成，以及在 B 淋巴细胞发育过程中免疫球蛋白分子基因的表达过程。

13.47　在小鼠中，一个完整的免疫球蛋白重链基因是如何构建的？

小鼠中重链小基因家族大约有 1000 个 V 区，至少有 12 个 D 区，4 个 J 区以及 5 个 C 区（每一区对应着免疫球蛋白重链的一类 μ、δ、γ、ε、α），如图 13－6 的顺序排列。D 区位于一条重链 V 区的第三超变区的 1～15 个氨基酸。每个 C 区都含有多个在初级转录剪接中要被剪除的内含子，另外在所有鼠类中还有 4 类 γ 链（$C_\gamma1$、$C_\gamma2a$、$C_\gamma2b$ 和 $C_\gamma3$）以及 3 个 λ 轻链恒定区亚型。这些亚类和亚型都是由各自的区编码的，但我们为简单起见暂且忽略这一点。重链初级

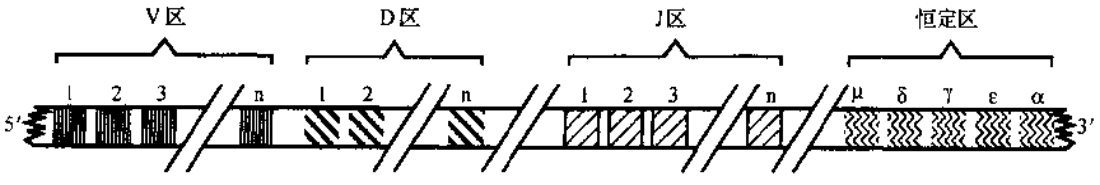


图 13－6　基因组中免疫球蛋白重链基因的定位。双斜线表示在小基因簇中还有其他基因或是在两基因簇中有间隔。

转录形成模板需要两处 DNA 重排。第一处涉及一个 D 区和一个 J_H 区；另一处涉及一个 V_H 区和发生重排的 DJ_H 复合体。

13.48 在产生的不同抗体分子上，抗原结合位点(互补位)是如何多样化的?

鼠类 κ 轻链中 $V_LJ_LC_L$ 结合的可能数目大约是 300V×4J×1C=1200。对于重链，这种**结合多样性**(combinatorial diversification)大约是 1000V×12D×4J=48 000。通过结合1000 轻链及 50 000 重链获得的可能抗原识别位点(互补位)就是 5×10^7。来自不同簇之间的连接机制很复杂，引起在连接位点随机的丢失或添加，参与 V 区编码顺序的**连接多样性**(junctional diversification)。而且，在 V 区发生的体细胞突变比例据估计是 10^{-3}/(细胞×核苷酸对)。这是比绝大多数其他基因平均自发突变率高出许多数量级的。这种现象称为体**细胞超变**(somatic hypermutation)，它发生在 B 细胞被抗原活化成为记忆细胞，而不是活化为抗体分泌型浆细胞时。

上述三种抗体多样性(结合多样性、连接多样性和体细胞超变)并不发生在生殖细胞中(即只发生在免疫系统的某些体细胞上，并不对基因组构成可遗传的修饰)。生殖细胞突变(在配子或其前身中)，尤其是那些影响 V_H 或 V_L 超变片段或两者同时被影响的突变是可以被遗传的。

在一个免疫反应中，发生在 B 细胞的任何增加细胞表面互补位亲和性的突变都将引起该克隆优先增殖，尤其是抗原浓度减少时。如前面在 13.22 中的解释，这一现象叫做亲和突变。如果加上结合性多样性、连接多样性和体细胞超变，估计要使潜在的互补位数目增加一千倍；$(5\times10^7)\times(10^3)=5\times10^{10}$。5 亿个潜在抗体在数量上大大超过鼠的 B 细胞总数(约 10^8)。很清楚，小鼠任何一次产生的不同抗体数最多 10^8 个。

13.49 B 细胞是带有父母双方基因组的二倍体细胞。因此有 6 个小基因库可供合成抗体：两个重链库(父母双方各一个)和四个轻链库(父母双方各一个 κ 和 λ)。但由每个 B 细胞合成的抗体却是单一特异性的，每个抗体含有同样的重链和轻链从而拥有相同的抗原结合位点。怎么解释这个现象呢?

任何一个人类的 B 细胞都会在某种程度上随机的选择一条 14 号染色体来编码重链，一条染色体(2 号或 22 号)编码轻链的 κ 或 λ 型。但是，在人类 60%(鼠类 95%)的时候是选择 κ 链家族。在任一细胞的某个指定小基因家族中，母系或父系等位基因仅一方表达称为**等位基因排斥**(allelic exclusion)。这一现象限制了编码免疫球蛋白的基因以及在进化上与编码 T 细胞受体蛋白相关的基因。V 区编码序列的构成起始于小基因的重链家族。首先，在亲本双方染色体上被选定的 D 区与选定的 J_H 区连接；然后，在其中一条染色体上选定的 V_H 区与 DJ_H 区复合体相连。第一个免疫球蛋白分子通常是由含有 μ 链(IgM 类)的处女型 B 细胞产生的。如果选定的 V_HDJ_H 复合体允许合成完整的 μ 链，那么 V_H 区就会发生进一步的重排，进而 V_L 和 J_L 的连接就可以在两个 κ 区之一开始；如果不行，重排就在另一个 κ 区发生。如果这也不能发生，重排就会移至第一个 λ 区，失败后再移至另一个 λ 区。一旦重排使得完整的轻链形成，它们就将与事先存在的 μ 链结合形成 IgM 分子，从而阻止 V_L 区编码序列的进一步重排。κ 或 λ 轻链除了参与抗体上的抗原结合位点(互补位)都没发现还有其他特殊的生物学功能。

13.50 每个 B 细胞在它的一生中只产生专一抗性的抗体，也就是说，轻链或 V_H 区都不会变。但是，在一个 B 细胞的生命中免疫球蛋白的 C_H 区可以发生两种变化：①由膜结合形式抗体转为分泌型抗体；②由 μ 链(IgM 型)转为其他重链类型。那么膜结合型抗体和分泌型(可溶性)抗体在结构特点上有哪些区别呢?

所有类型的免疫球蛋白都可以被合成成膜结合型也可以是脱细胞的可溶形式。最初和

抗原接触时，靶细胞生产膜结合型抗体作为它的抗原受体。和抗原接触后，B细胞分化（当由辅助T细胞刺激时）出一个细胞系，其中某些成熟后成为浆细胞的成员将主要产生脱离细胞的可溶性抗体。膜结合免疫球蛋白的重链比分泌型要长，而且在羧基端附近（抗体柄部）含有一段疏水氨基酸序列，将其锚定在胞膜的脂质双分子层中。可溶性抗体则没有这种疏水区，而且它们较短的重链在羧基端含有一段亲水序列，使它们可以从细胞中释放出来。

13.51　膜结合型IgM是怎样完成向可溶性（分泌型）转换的？

解释由膜结合型IgM向其可溶形式转换最流行的的理论涉及到核中mRNA转录的加工过程。在mRNA转录过程中，序列AAUAAA（polyA位点）被polyA酶识别，切除由次位点起下游的10～30个核苷酸，再在其3′端添加100～200个腺苷酸残基。同时RNA聚合酶沿重链结构基因继续转录了几百甚至几千个核苷酸，直至它为某种不为所知的机制终止。mRNA转录产物不会在5′端加帽，因此会被迅速降解。由μ链的重链区含有两个polyA位点（图13-7）。两位点之间是两个编码重链疏水区的外显子。在接触抗原之前，B细胞选择末端的3′polyA位点并切除初级转录物一小段，再加上polyA尾巴。mRNA剪接去除内含子之后，在C_H4区相邻处带有膜序列的mRNA分子形成。

但接触抗原之后，B细胞就选择（机制未知）近端的5′polyA位点。在近端切除转录物，切除编码C_H4末端疏水区的外显子。若被转录为μ链，在C_H4末端的亲水区使得免疫球蛋白分子可以被分泌。μ重链的膜结合形式是7S单体的一部分，因此IgM被分泌的形式就是被一条J链相连的5个7S单体的五聚体。在合成膜μ链时，RNA剪接过程从C_H4外显子的3′端切除了与J链相关的区域。而在细胞分泌IgM时这一片段被完整的留下。

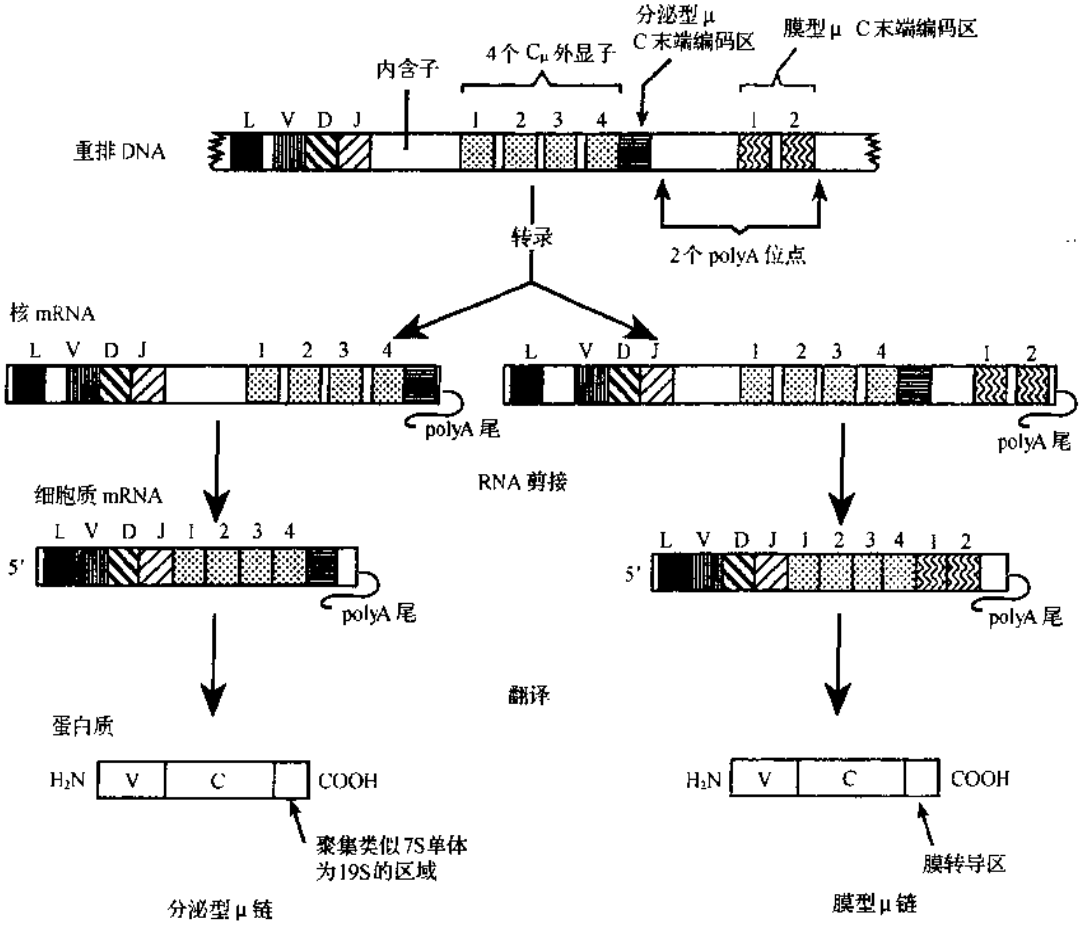


图13-7　产生分泌型μ链及膜型μ链的各种聚腺苷酸化的过程示意图。L即非编码前导序列。

13.52 怎样的机制使得 B 细胞由只合成 IgM 到既合成 IgM 也合成其他类型免疫球蛋白?

由处女型 B 细胞产生的第一个抗体是膜结合型 IgM。以后,在抗原接触之前,大多数 B 细胞开始生产膜 IgD。被抗原刺激时,B 细胞中的部分成熟为浆细胞并合成引发主要抗体反应的 IgM 五聚体分泌形式,其他被抗原刺激的细胞转而形成 IgG、IgA 或 IgE。这种转型变化只发生在免疫球蛋白分子的 C_H 区,而不在 Fab 区。因此,所有可变区(VDJ)都能获得全部与各类免疫球蛋白相关联的 C_H 区的生物功能。

控制类型转换主要有两种机制。一个处女型 B 细胞由只生产膜 IgM 到同时生产膜 IgM 和 IgD 涉及了不同 mRNA 的剪接(图 13-8)。一旦 V_HDJ_H 复合物形成,转录就会产生一个包括 C_μ 或 C_δ 区甚至所有其他 C_H 区的较大的初级转录物。μ 链的产生涉及到去除 V_HDJ_H 复合物与 C_μ 之间的 mRNA 片段;δ 链的产生涉及去除 V_HDJ_H 复合物与 C_δ 之间的 mRNA 片段(这里 C_μ 被视为内含子)。当初始 B 细胞被抗原刺激时,这一机制也被认为适用于转换到膜结合型免疫球蛋白的其他类型。

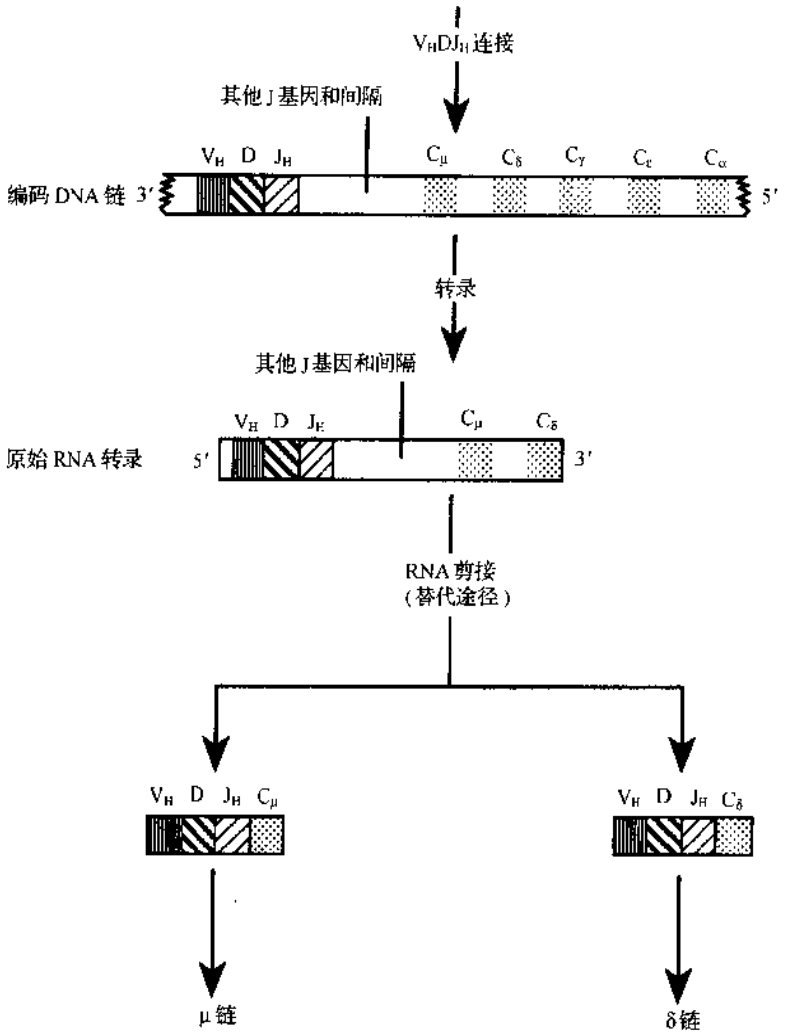


图 13-8 通过不同 RNA 剪接产生的类型转换。

13.53 在浆细胞的最终成熟中,类型转换是怎样完成的?

一种称为**转换重组**(switch recombination)的完全不同的机制负责分泌 IgG、IgA 或 IgE 的浆细胞的最终成熟。这一过程去除了全部 C_H 区以及 V_HDJ_H 复合体之间的 C_H 小基因。尽

管单一活化B细胞的后代可以表现出不同的免疫球蛋白类型，但所有这些抗体都有相同的Fab。每个浆细胞合成单独一类免疫球蛋白；当浆细胞开始分泌各自抗体时它们就失去了各自的膜结合型免疫球蛋白分子。

13.54 编码T细胞受体的遗传系统有哪些主要特点?

T细胞受体对应α、δ、β和γ链的3个小基因家族或基因片段，分别位于人类基因组14号染色体，7q(长臂)和7p(短臂)上；小鼠的14、6和13号染色体上。δ链区散在于α链区中。所有四种链的类型都由类似于免疫球蛋白中V、J和C区排列的片段编码；只是β链和δ链有一个附加的D形区。如同对免疫球蛋白基因的解释，任何一个细胞的T细胞受体上，由于等位排斥，只有一个抗原结合位点。

13.55 MHC在鼠类和人类中的名称是什么? 在这两个物种中MHC定位在哪里?

在鼠类中MHC被称为**H-2系统**(H-2 system)；在人类中由于其抗原中的一部分是首先在白细胞上被识别的，因而称为HLA(human leukocyte-associated antigen，人白细胞抗原)。这些及其他的MHC抗原后来又在其他细胞上被发现。鼠类MHC(在17号染色体上)和人类MHC(在6号染色体上)有许多相似之处(图13-9)。大多数编码Ⅰ类和Ⅱ类分子的MHC基因座是高度多态的(由于在群体中每一基因座的复等位基因的存在)。

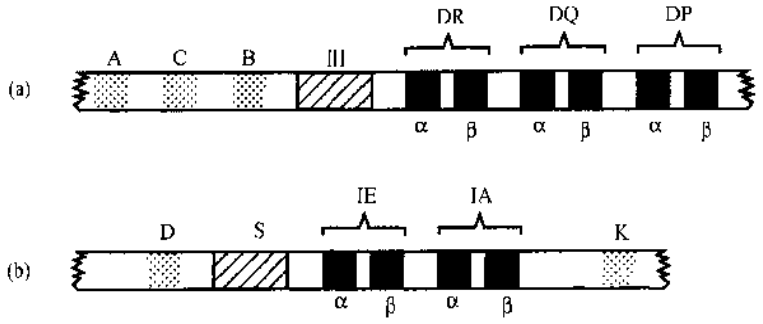


图13-9 MHC基因座示意图。(a)人类位于6号染色体上的HLA复合体；(b)鼠类位于17号染色体上的H-2复合体。同源基因座用相同的形状表示。编码Ⅰ类MHC分子α链的基因带有斑点；编码Ⅱ类MHC分子α链和β链的区域是实心黑色；编码Ⅲ类MHC分子的基因表示为阴影。

13.56 人类MHC有怎样的基因结构? MHC又是如何编码Ⅰ类和Ⅱ类分子的?

每个人有七个或更多个编码MHC分子的基因座。在任何两个无亲属关系的个体细胞中带有相同的MHC分子系列是很少见的。这使得寻找和受体方MHCⅠ类分子相匹配的供体组织或器官变得十分困难。人类MHC有三个基因座(A、B、C)编码Ⅰ类分子的α链。对于Ⅱ类分子，鼠类有两组基因座(IA和IE)，每一组编码一条α链和一条或多条β链；人类至少有三组这种基因座(DP、DQ、DR)，每组编码一条α链和一条β链。在染色体上紧密相连基因的专一结合是指所谓的**单体型**(haplotype)。那么每一个二倍体细胞就有两个针对MHC基因的单体型。每个MHC单体型通常将作为一个单位传递给后代，除非在MHC区域中发生了互换。介于人类MHC区域在长度上少于5个重组单位(厘摩)，因而配子中大于95%将含有非重组亲本单体型。

13.57 细胞中有多少种MHC分子?

当MHCⅠ类基因在一个确定的细胞中被表达时，Ⅰ类区域中每个基因座中的每一个等

位基因都会被转录(共显性等位基因相互作用)。同样的方式也适用于MHCⅡ类区域中的基因,不过只是在那些表现Ⅱ类抗原的细胞中。定位排斥并不发生在MHC的所有基因中。在人类群体中许多等位基因在三个Ⅰ类基因座(A、B、C)中都出现,在人HLA-B基因座克隆中就已知有超过30个等位基因。在所有三个基因座都是杂合的个体中,每个细胞将带有6个MHCⅠ类分子。每个Ⅱ类区域(DP、DQ、DR)编码一条α链和一条β链。

如果一只小鼠在IA基因座中的等位基因是杂合的,那么就有4种IA分子被产生:α1β1、α1β2、α2β1和α2β2。如果IE基因座也是杂合的,就会形成另外一组4个α/βIE链的组合。由于在IA和IE基因座中有一个以上的β基因,所以一个小鼠细胞可以有10～20个Ⅱ类分子。

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 下面(　　)不是免疫球蛋白超基因家族中的一员。 (a)抗体 (b)淋巴细胞 (c)MHC糖蛋白 (d)T细胞受体 (e)白细胞上的Fc受体
2. 下面(　　)可以描述一个免疫反应。 (a)获得性的 (b)可转移的 (c)专一性的 (d)上述不止一个正确 (e)上述全部正确
3. 下面(　　)通常与分泌目的单克隆抗体杂种的生成相关。 (a)产生抗体的鼠突变骨髓瘤细胞 (b)被免疫鼠骨髓中分化的浆细胞 (c)核苷酸替代途径的氨基蝶呤阻断 (d)促细胞分裂剂诱导的抗体多样性 (e)上述一个都不对
4. 下面(　　)不是B细胞或抗体参与免疫反应分机制。 (a)抗原呈现给T细胞 (b)凝集作用 (c)调理作用 (d)补体活化 (e)直接杀死细胞
5. 免疫反应的一个主要分支是由T细胞介导的(细胞介导的免疫反应,CMI);另一个分支被称为(　　)。 (a)血细胞携带的 (b)可溶性的 (c)体液的 (d)抗生的 (e)淋巴细胞介导的
6. 回忆性反应主要与(　　)。 (a)初次免疫反应 (b)再次免疫反应 (c)自发免疫反应 (d)细胞毒性反应 (e)细胞因子反应相关
7. 巨噬细胞被划分为(　　)。 (a)APCs (b)淋巴细胞 (c)Cds (d)专一效应细胞 (e)调节细胞
8. 浆细胞是(　　)。 (a)长寿记忆细胞 (b)Y细胞的一类 (c)成熟的抗体分泌型细胞 (d)只在再次免疫反应中产生 (e)上述有一个以上正确
9. 下面(　　)功能不是免疫反应中细胞介导分支的主要功能。 (a)杀死病毒感染的细胞 (b)刺激淋巴细胞活化 (c)阻止免疫反应的过分活化 (d)通过分泌淋巴因子中和毒素分子 (e)抵制外源组织移植
10. T细胞是在(　　)成熟的。 (a)甲状腺 (b)脾脏 (c)骨髓 (d)淋巴结 (e)上述都不对
11. 克隆选择理论最好的解释了(　　)。 (a)记忆细胞的产生 (b)抗原抗体结合的机制 (c)B细胞成熟为浆细胞 (d)免疫反应的专一性 (e)MHC限制性现象
12. 下面(　　)不能表示7S免疫球蛋白。 (a)2κ2λ (b)2α2λ (c)2κ2γ (d)2μ2κ (e)上述不止一个正确
13. 类型转换属于(　　)。 (a)表位 (b)互补位 (c)MHC分子 (d)Ig轻链 (e)Ig重链
14. 下面(　　)不能导致抗体结构多样性。 (a)类型转换 (b)等位排斥 (c)重组多样性 (d)连接多样性 (e)体细胞超变
15. 补体活化的替代途径(　　)。 (a)是由微生物细胞壁刺激的 (b)和传统途径产生同样

的膜攻击复合物 (c)和传统途径相比以不同方式产生 C3b (d)不需要抗原抗体的相互作用 (e)上述说法都正确

16. 被认为涉及由 TCR-抗原到细胞内信号传递的一系列多肽链记作( )。 (a)IL-1 (b)CD3 (c)IL-2 (d)CD4 和 CD8 (e)APC
17. 在一个 B 细胞中有( )个潜在的独立小基因家族可以生成抗体。 (a)3 (b)4 (c)5 (d)6 (e)6 个以上
18. 一个可以产生抗体的细胞由膜结合型 IgM 转换为分泌形式的过程是( )。 (a) polyA 位点的选择 (b)DNA 片段的缺失 (c)重链氨基端的切割 (d)从 RNA 初级转录物中去除外显子 (e)重链类型转换
19. 与等位基因相互作用有关的细胞(有针对 IgE 抗体的表面受体并含有组胺)被认为是( )。 (a)中性粒细胞 (b)单核细胞 (c)嗜碱性粒细胞 (d)肥大细胞 (e)上述不止一个正确
20. 下面给出了父母的 MHC 类型,

父母:(A1B8)/(A3B7)×(A2B12)/(A9B5)

下面( )最不像是他们的后代。 注:同源染色体上的单体型由斜线分开。 (a)(A1B8)/(A9B5) (b)(A1B8)/(A3B7) (c)(A3B7)/(A9B5) (d)(A2B12)/(A1B7) (e)(A9B12)/(A3B7)

是非题

1. 所有成熟 B 细胞和 T 细胞都可以针对与其接触的任何外源抗原做出反应。
2. 抗体和抗原是通过多种共价键结合的。
3. 每个免疫球蛋白分子都有 2 个互补位,也就是说,它们都是双价的。
4. 由一个 B 细胞产生的免疫球蛋白上的互补位在该细胞的一生中都不会发生变化。
5. 免疫球蛋白中的所有类型都既可以被合成为膜结合型也可以是分泌型。
6. 一个浆细胞中的所有 Ig 基因和 T 细胞上所有编码 T 细胞受体的基因都是显性的,也就是说,杂合基因型细胞中每个等位基因都表达。
7. 在一个 B 细胞中,Ig 基因的重排发生在双方亲本染色体上的重链小基因簇。
8. 大多数编码Ⅰ类和Ⅱ类分子的 MHC 基因座在每个个体中都是高度多态性的。
9. 等位排斥不影响编码 MHC 分子的基因。
10. 人类 B 淋巴细胞被认为是在骨髓中成熟的。
11. 成熟 B 淋巴细胞通常不与自身抗原作用,因为在它们成熟的过程中已经丢失了可以形成自我作用抗体的 Ig 基因。
12. Tc 细胞与结合有Ⅰ类 MHC 分子的抗原反应,Th 细胞与结合有Ⅱ类 MHC 分子的抗原反应。
13. 自然杀伤细胞(NK 细胞)可以在没有 MHC 分子和补体帮助的情况下识别并破坏外源细胞。
14. 每一个纯抗原(例如一种外源蛋白质)只能刺激 B 细胞和/或 T 细胞单克隆的成员。
15. 免疫球蛋白类型转换不涉及轻链。
16. 膜结合型 IgM 是个有 5 个 7S 形单体组成的五聚体。
17. 在每个免疫球蛋白分子中,V、D、J 和 C 簇中之一被选择产生轻链。
18. 轻链 mRNA 的转录总数由染色体重排后与 J 基因紧密相连的 V 基因开始的。
19. 携带与抗原有最大亲和性的受体的 B 淋巴细胞是增殖克隆最大的细胞。
20. 当初始 B 细胞被抗原刺激变为记忆细胞和 B 细胞成熟为抗体分泌型浆细胞时,产生抗体多样性的机制是一样的。

匹配题 将A栏中的各项与B栏中的一个或多个相关联的项相匹配。

题 1

A 栏	B 栏
1. 补体蛋白	A. Ⅰ类MHC分子
2. 二聚体(两条链)的功能	B. Ⅱ类MHC分子
3. 通常自由存在或以膜结合的形式存在	C. Ⅲ类MHC分子
4. 膜结合型分子的所有链由同一小基因簇编码	D. T细胞受体
5. 每条链都有可变区和恒定区	E. 免疫球蛋白
6. 不一样的链是由共价键结合的	F. 上述都无关
7. 膜分子的某些链是没有二硫键的	
8. 细胞表面分子的所有链都可以穿过细胞膜	
9. 含有 β_2 微球蛋白	
10. 细胞表面分子含有 α 和 β 链	
11. 可在所有有核的哺乳动物细胞中发现	
12. 主要定位在所有淋巴细胞和巨噬细胞上	

题 2

A 栏	B 栏
1. 以比 7S 大的分子形式存在	A. IgA
2. 一般成年人血清抗体中比例所占最大	D. IgD
3. 与肥大细胞和嗜碱性粒细胞相连	E. IgE
4. 活化补体	G. IgG
5. 除了结合抗原外尚不知有其他特殊功能	M. IgM
6. 可以通过胎盘	N. 上述都无关
7. 第一个B细胞受体	
8. 黏膜的主要保护物	
9. 通过 Fc 与巨噬细胞相连	
10. 含有一条J链	

术语 除非特殊指明,每个答案为一个词。

1. 紧密相连基因的一种特殊组合,通常以一个单位传递给后代。
2. 定位在免疫球蛋白或T细胞受体上的抗原决定簇。
3. B细胞的一种肿瘤。
4. 单克隆抗体的一种商业化来源。
5. 超敏的一种潜在致死形式。(一或两个词)
6. 由于C和VDJ复合体之间所有的 C_H 区缺失使得浆细胞分泌IgG的最终成熟的机制。(两个词)
7. 由嗜酸性粒细胞产生的一条蛋白链,与体液中的IgA分子有关。(两个词)
8. Tc淋巴细胞的细胞产物,其多聚体可在靶细胞上形成穿膜通道。
9. 针对抗原的一种被诱导的或自然的免疫不应答状态。
10. 任何诸如抗体或C3b的物质,可与抗原结合并可强化其吞噬作用。
11. 免疫系统被活化的过程。
12. 连接IgA或IgM多聚体的一条多肽。(一个字母和一个词)
13. 细胞膜上蛋白分子的两字母表示方法,用以区分人类白细胞亚群。
14. 表示在免疫球蛋白分子上的抗原结合位点数目的专有名词。

15. 一类细胞杀伤方式:结合有抗体的靶细胞被带有针对 IgG 的 Fc 受体的效应细胞攻击并且随后即在没有补体参与的情况下被降解。(可缩写为四个字母)

16. 一种本身不能引起免疫但通过结合成为一个诸如蛋白质的大载体分子就可引发免疫的低分子质量外源物质。

17. 组织中的一类大的单一细胞核白细胞(类似于血液中的单核细胞),起到抗原呈递细胞或 ADCC 中的杀伤细胞的功能。

18. 参与吞噬作用和早期炎症反应的颗粒性白细胞。它有 Fc 受体而且也可以参与 ADCC,但不是抗原呈递细胞。

19. 针对自身抗原的有害免疫反应。(两个词)

20. 一类由多种细胞分泌并负责调节免疫反应的强度和持续时间的低分子质量蛋白质。

免疫球蛋白结构

将右图免疫球蛋白分子中标有数字部分的名称按如下要求注出。

1. (3+4)

2. 这是多肽链的哪一端?

3. 特有所指!

4. 特有所指!

5. 这是多肽链的哪一端?

6. 这是哪种连接?

7. 特有所指!

8. 这是一个有"弹性的"区域。

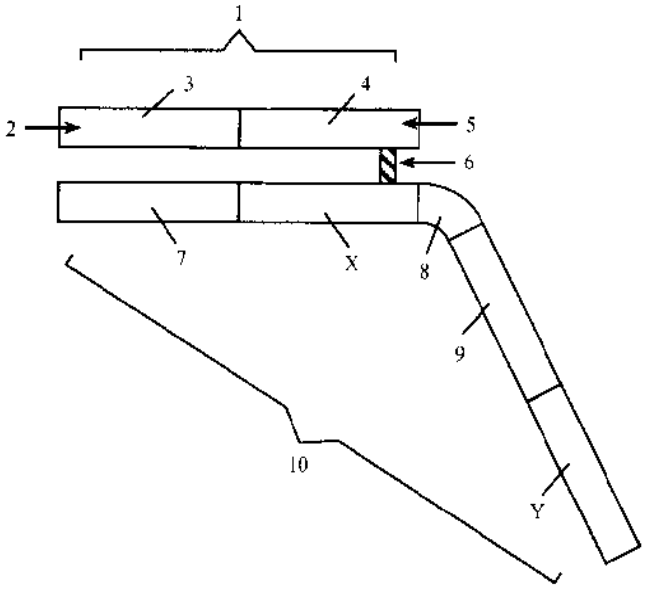
9. 特有所指!

10. 包括 7+X+8+9+Y

11. 7+X

12. 1+11;(11=7+X)

13. 2(9−Y)



答　案

选择题

1. b **2.** e **3.** c **4.** e **5.** c **6.** b **7.** a **8.** c **9.** d **10.** e(胸腺) **11.** d **12.** a **13.** e **14.** b **15.** e **16.** b **17.** d **18.** a **19.** e(c 和 d) **20.** b

是非题

1. F(每个细胞一种互补位) **2.** F(非共价键) **3.** F(分泌的 IgA 和 IgM 分别有 4 个和 10 个互补位) **4.** T **5.** T **6.** F(等位基因排斥使得每个基因座中只有一个等位基因可以表达) **7.** T **8.** F(在群体中) **9.** T **10.** T **11.** F(自我反应细胞死亡) **12.** T **13.** T **14.** F(在 B 细胞和 T 细胞中是多克隆反应) **15.** T **16.** F(是单 7S 单位) **17.** F(L 链中没有 D 簇) **18.** T **19.** T **20.** F(体细胞超变只发生在记忆细胞的发育过程中)

匹配题

题 1:**1.** C **2.** A,B,D **3.** C,E **4.** B **5.** D,E **6.** E **7.** F **8.** B, D **9.** A **10.** B, D **11.** A **12.** B

题 2:**1.** A, M **2.** G **3.** E **4.** M, G **5.** D **6.** G **7.** M **8.** A **9.** G **10.** A, M

术语

1. 单元型 **2.** 独特型 **3.** 骨髓瘤 **4.** 杂种瘤 **5.** 过敏性反应 **6.** 转换重组 **7.** 分泌片 **8.** 穿孔素 **9.** 耐受 **10.** 调理素 **11.** 免疫反应 **12.** J 链 **13.** CD **14.** 效价 **15.** 抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC) **16.** 半抗原 **17.** 巨噬细胞 **18.** 中性粒细胞 **19.** 自发免疫性疾病 **20.** 细胞因子

免疫球蛋白结构

1. 轻链(L 链) **2.** NH_2(自由氨基端) **3.** V_L(轻链可变区) **4.** C_L(轻链恒定区) **5.** COOH(自由羧基端) **6.** 二硫键 **7.** V_H(重链可变区) **8.** 铰链区 **9.** C_H2(重链恒定区 2) **10.** 重链(H 链) **11.** Fd **12.** Fab(抗原结合片段) **13.** Fc(结晶片段)

分子进化

"我们越是在分子水平有深入的了解，就越是了解所有已知的生命形式。"[1]

导　言

在20世纪的前半叶，支持生命进化的理论主要来自于解剖学、生理学和胚胎学的比较研究。到了1953年，Watson和Crick提出了DNA结构的双螺旋模型，使得有关基因结构、功能、调控和进化等方面知识在分子水平上得到迅猛发展。现在除了有化石骨、贝壳、石化木的化石以及早期生命形式的其他线索，我们还可以研究我们的**分子化石**(molecular fossil)。这些就是各种生物所共有的生命形式(现存的)的结构(例如，在转录单位中内含子的存在)或过程(例如，一般生物学途径的应用)，而它们似乎更可能是由一个共同的祖先遗传下来的，而不是从毫不相关的祖先处各自获得的。

分子研究在生命起源及其后来发展为众多现存的和灭绝的物种上有所帮助。依据现有的可用证据，很难最终证实(假设可能的话)与这些早期事件相关的理论。关于生命在地球上的起源，也许我们永远不能做到我们所期望的"证实"。可我们确已获得足够的信息，得出了某些至少表面上正确的结论。但是，由于尚有如此多的事实没被发现，所以，如果我们现有的模型在不断探索更好的解释过程中被更新的理论所修改或替代，是丝毫不应感到惊讶的。而不断探寻更完美的解释恰恰是科学研究的核心。

起　源

14.1　一个化学系统成为所谓的"有生命的"需要有哪些特征?

活的细胞至少要有：①将细胞的内容物与其外界环境分开的界膜；②携带遗传信息的一个或多个DNA分子，这些遗传信息可专一化涉及自身DNA复制蛋白质的结构；③可以合成RNA的转录系统；④可将核糖核酸序列编码为氨基酸序列的转译系统；⑤提供展开这些基本活性所必需的可用能量形式的代谢系统。

第一个生命系统毫无疑问要比现在的活细胞简单得多。由非生命到生命的转化是逐步的，并不是一个简单的事件就导致了生命有其现在的复杂性。甚至当今生物学家都不能完全确定生与死的概念。尽管不是被广泛的接受，但下面的标准通常包括在生命的定义里，在此提出也是为了深入讨论作个介绍。被认为是有生命的分子集合要具备下面的特点：①能够利用化学能和/或放射能(光能)驱动需要能量的化学反应；②通过可控制的合成能在体积上获得增加(生长)；③拥有一个信息编码系统(基因组)以及一个可将编码信息转译为分子的系统(包括该编码系统)，而且使它能够产生一个或多个带有相同性质的分子集合。

14.2　地球上的生命是什么时候出现的?

对地球年龄的最佳估计是大约距今有46亿年。表面上类似细菌的最古老的**微化石**(mi-

[1]引自《基因的分子生物学》，Watson等著，1987年，第四版，Benjamin cummings出版公司。

crofossil，只能借助光学或电子显微镜看到），死于距今 35 亿年前。因此，在地球历史的头 10～15亿年期间，**化学进化**（chemical evolution，例如氨基酸及其在多肽中的聚合形式的生物合成）可能在时间上领先于细胞生命及其随后**生物学进化**（biological evolution）的出现。

14.3 生命是在怎样的环境中起源的？

根据一个较为流行的理论，太阳、地球和我们太阳系中的其他恒星都被认为是通过星际间气体和尘埃的重力碰撞形成的。这一事件产生的压力合在一起再加上不稳定成分的反射性衰变就产生了足够熔化初期地球深层的热量。尽管外壳冷却固化得比较快，但火山的活动要比今天广泛得多。最初的大气是由火山喷发喷出的气体产生的，但它的主要可能成分还有待讨论。以前认为早期的大气是非常简单的，主要含有氢气（H_2）、氨气（NH_3）、甲烷（CH_4）、一氧化碳（CO）以及大量的水。当地球变冷，大气中的大部分水凝结形成早期的海洋。但当今主流的观点倾向于早期的大气是接近中性的，主要含有氮气、一氧化碳、硫化氢（H_2S）和水。而且广泛认同那不是一个有氧的大气。

14.4 哪些证据可以证明早期的地球大气是没有氧的？

地球外壳最古老的岩石不含有被氧化的物质。带状铁的形成（铁的沉淀残渣沉积物嵌入硅基质，也被称作“红床”），首次出现的时间在地质记载上是大约距今 20 亿年前。在此之前，铁是以亚铁离子（Fe^{2+}）的形式溶解在海水里的。有氧气之后，铁转化为高价铁（Fe^{3+}）形式并在海底岩层中以水合氧化铁（hydrous ferric oxide）沉积下来。在几百万年中，溶解在海洋中的亚铁离子全都消失，氧气开始聚集在大气中。

云母铀（uranite）是铀化合物（UO_2），只有在氧气浓度非常低（<1%）的情况下才会聚集。当大气中氧的浓度超过 1%时，云母铀就会被氧化成 U_3O_8 并溶入水中。云母铀消失在地质记载大约距今 20 亿年前，暗示着那个时候氧气在大气中的浓度达到了 1%以上。

14.5 什么原因使得早期的大气变成有氧的？

类似于现今蓝藻类细菌（蓝绿藻）的微化石，在距今 35 亿年的石灰岩中发现。这些岩石通过海洋蓝藻类细菌和沉积物层形成于确定的潮间带区，称为**叠层石**（stromatolite）。叠层石现在还在世界的某些地方继续形成。据推测，这些古老的光合作用细菌在分解水时将氧气作为一种副产物产生，和现在蓝藻一样。但由于氧气一形成就被海洋中许多各种各样的还原离子结合，所以不能立刻聚集到大气中。大气中聚集的氧气浓度超过 1%经历了 15 亿年，导致云母铀在大约距今 20 亿年前从古沉积物中消失了。

传统上认为，大气中氧气的形成归因于早期蓝藻光合作用分解水。但是，在 1993 年发现了一种新的细菌类型可以进行一种特殊的光合作用。这些细菌不从水而是从铁原子获得电子，将亚铁离子（Fe^{2+}）转化为高价铁离子（Fe^{3+}）。铁离子与水反应变成氢氧化铁，然后再变成氧化铁（铁锈），氧气不是由这一过程产生的。它暗示古细菌经类似的光合作用能够产生带状铁形式而不释放氧气到大气中去。在这一理论中，由蓝藻光合作用裂解水产生氧气至少在 35 亿年前就开始了。

另一理论提出宇宙射线的强度可使氧气分子从水分子中游离出来。然后氧气再和海洋中的铁结合在沉积物中形成氧化铁。若一旦氧气开始在大气中形成（无论来自于生物光合作用还是非生物过程），高能量的太阳射线或光线作用于氧气分子（O_2）使其成为臭氧（O_3）。臭氧将提供给生物分子免受宇宙射线破坏和影响的保护，和它现在对生命形式所起的作用一样。

14.6 合成核酸和蛋白质的第一个构件是如何形成的？

关于生命是如何在地球上开始的有两种科学理论。要么生命（和/或其前体）由非生命的化学物质在地球上演变的，要么是在宇宙的其他什么地方演变后通过彗星或陨星带到地球上

来的(**生源说理论** panspermia theory)。生源说理论不能解释宇宙中生命的起源,只能把起源由地球移至其他什么地方。认为生命是由某种超自然力量产生的想法是不可能被事实证据支持或反驳的,因此是在科学真相之外的。

氨基酸和其他现代生物大分子的前体物质已经在陨星中被发现,因此这些小分子的化学演变就将被(已经被)扩展到宇宙中。俄国生化学家 Alexander I. Oparin,在他 1924 年的论文中首次提出在地球大气与现在的大气层极其不同的时候,这些基本的构件单体就已经通过前生物化学途径在地球上产生了。这一理论在其 1936 年的著作《生命的起源》一书中得到进一步的展开。与此同时,英国遗传学家 J. B. S. Haldane 也在生命的起源方面独立的提出了许多与 Oparin 相似的推测。因此这些理论就构成了所谓的 Oparin-Haldane 假设。但直到 1953 年,试图证实 Oparin-Haldane 假设的实验才首次获成功。Stanley L. Miller 在他的导师 Harold Urey 指导下,用一个回流装置循环水蒸汽(图 14-1)和其他气体(CH_4、NH_3 和 H_2),试图当这些气体暴露于一个持续高压放电的小室时模拟早期的大气。几天之后,分析这些混合物发现至少含有 10 种不同的氨基酸、一些乙醛和氰化氢(HCN)。Miller 和其他科学家在随后的实验中用不同的分子混合物和能量源产生了多种其他生物多聚体的构件。

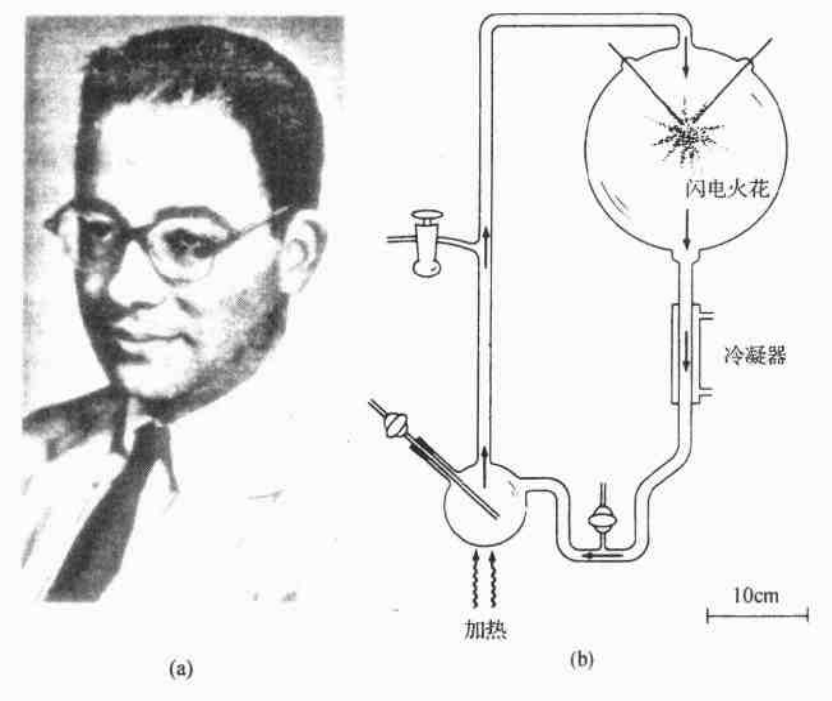


图 14-1　(a)Stanley L. Miller。(b)模拟地球早期大气条件下合成有机物分子的装置示意图。(选自 Macmillan Publishing Company, 1977, W. P. stansfield《The Science of Evolution》。)

例 14.1

在氨气中回流氰化氢通过火花室产生氨基酸中的腺苷。在适合氰化氢发生聚合的条件下产生乳清酸。经光化学脱羧乳清酸形成 RNA 中的尿嘧啶。由甲醛产生多种糖类。甲醛聚合产生 RNA 分子中的核糖。非生物学合成大分子构件单体的途径是很值得考虑的,而且可能确实是无可比拟的。但似乎在化学演变时期,这些或那些各种各样的途径已经在不同的地方和/或不同的时间被用到。

14.7　有实验可以证明生物大分子是由较小的单体自发聚合而成的吗?

Sidney Fox 和他的同事将氨基酸在无水的条件下加热到 160～210℃,发现氨基酸聚合成

蛋白质形式的链，他们称之为**类蛋白**(proteinoid)。不像由现代细胞产生的线状蛋白质，类蛋白是分支型的多肽。它们的分子质量在4000～10 000Da之间，这表明它们是由40～100个氨基酸残基组成。当溶解在水中时，类蛋白表现出许多生物蛋白质的性质，包括有限的酶活性和被诸如胃蛋白酶和胰蛋白酶等蛋白酶消化的敏感性。

蛋白形式的肽键也可以由氨基酸在黏土上形成。黏土由无机离子和水的交变层构成。黏土高度有序的晶体结构强有力的吸附有机分子，促进了彼此间的化学反应，尤其当黏土含有丰富的金属离子时。在实验室中，氨基酸、水和黏土的混合物暴露于25℃和94℃之间的温度波动中，就如同它们在自然界置身于昼夜交替的泥室中。在这种实验里可以检测到多肽。含有核苷酸和磷酸的混合物加热到60℃，延长加热时间就可以产生核酸聚合体。如果潮池、内陆海或含有这些聚合物湖泊中的水分部分蒸发使得生物大分子浓缩，彼此间相互作用将更加频繁。

当类蛋白溶液在水中加热然后再冷却，就可以形成小球形颗粒，称为**微球**(microsphere)。这些微球和球形细菌有同样的大小和形状。某些可以通过类蛋白和脂类的添加生长成长(增加体积)，随后通过分裂或出芽增殖。某些微球还可以从水环境中吸收各种分子，有些有弱催化活性，包括催化ATP到ADP的水解作用、脱羧作用、脱氨作用和氨基化。

许多年来科学家始终相信脂细胞膜只有在它们含有蛋白质通道时才透过营养成分和离子。但在20世纪60年代早期，生物学家Alec Bangham发现，由蛋黄中提取的脂类当和水混合时，自发组织形成如同许多细胞大小的双层小泡。这些小泡就是所谓的**脂质体**(liposome)。以后发现，由带有10～14个碳长尾巴的脂肪酸组成的脂质体倾向于形成闭合的小泡，但是它们留有的漏洞足以从环境介质中吸收诸如蛋白质和核酸等的各种物质。陷入脂双层或脂质体中的物质会发现自己处于一种亲水环境中，使得它们有更适宜的条件进行某种特定的化学反应。因此脂双层既促进凝集也促进催化。类蛋白可以增加脂质双层膜的传导作用。这暗示着它们可以成为离子或电子传导的核心。由脂质膜和蛋白微球构成，但是缺少DNA或RNA分子的小泡，据推测在生命起源的早期阶段就存在这些实体称为**始祖生命**(progenote)。

核糖核酸(RNA)与核糖核蛋白(RNP)的世界

14.8 一个生命系统必须能够复制其遗传物质并且能有所进化。现存细胞的基因组都是由DNA组成的而且都能参与上述功能。DNA复制需要蛋白质，但大多数蛋白质是在RNA模板上形成的，而RNA模板本身则是依据DNA模板形成的。那么到底谁先形成，蛋白质还是核酸？

某些细菌[例如芽孢杆菌(*Bacillus brevis*)]无需核糖体就可以合成短肽抗生素类化合物。但是，承担这些特殊类型蛋白质合成的酶要比它们产生的寡肽产物长得多。由于合成短杆菌肽S类似于脂肪酸的合成，所以早期的一个理论认为核糖体蛋白质的合成是由脂肪酸的合成演变来的。但对于短杆菌肽S的每一个肽键至少要有一个酶促亚基。所以这些较长酶分子的起始不能归因于这种机制类型。

在1981年，随着来自于纤毛纲原生动物四膜虫(*Tetrahymena thermophila*) rRNA转录中一个内含子的发现，这个"鸡还是蛋"的问题有望获得解决。该内含子可以在没有蛋白质参与的情况下将自己从原分子中去掉。从那时起，许多其他有催化作用的RNA(**核酶**，ribozyme)在不同生物中被发现。假设生物出现前RNA分子就能够通过单核苷酸随机缩合成为小型多聚体自我复制(RNA复制酶)。大多数现代蛋白质的活性位点和有催化活性的RNA构成了它们所属聚合体中相对较小的片段。非生物合成的，较小的原始RNA复制酶可能只有很弱的催化活性，而且可能导致易错复制。但这样一个分子就应该能够利用自身或其他RNA分子作为模板聚合RNA核苷酸。早期RNA复制酶分子复制期间的许多错误将创造基因多样性库，自然的选择倾向于那些复制迅速和(或)复制更为准确的分子。这一设计有一个问

题，就是没有复制酶可以复制它自己的活性位点。有必要提出，与前体分子的原始状态同时，有两个 RNA 复制酶被合成。含有一个 RNA 基因组的一类细胞，称为 **eugenote**，被推测是由始祖生物进化而来。

14.9　四膜虫的自我剪接内含子是如何将其自身从原 rRNA 分子中去掉的?

四膜虫主要的转录产物(前 rRNA)通常有 17S、5.8S 和 26 S rRNA 分子，后两个组成了较大的 60S 核糖体亚基。合成过程中，在 26S rRNA 中存在一个 413 个核苷酸的内含子，而且通过一系列的**磷酸键转移**(phosphoester bond transfer)或**转酯作用**(transesterification)环化(图 14-2)。该内含子在其 5′端有一 6 个核苷酸组成的序列(称为**内部指导序列**)，和 3′端的部分互补序列碱基配对。内含子的活性位点与一个自由的鸟苷酸(GMP、GDP 或 GTP)相连。G 单核苷酸的 3′-OH 在相邻 5′端外显子剪接位点磷酸二酯键发动亲核攻击。磷酸基和羧基在转酯反应中被交换，使得前 rRNA 分子在这一点上形成了一个缺口。3′端外显子的 5′端带有一个羧基；内含子的 5′端带有磷酸基。在 5′端外显子新形成的 3′端羧基攻击内含子 3′端的磷酸二酯键。再一次的转酯反应释放出了内含子(带有 3′-OH)和经剪接的 RNA。转酯反应不消耗任何高能键。形成的磷酸二酯键数目与被破坏的一样多。因此，内含子只是重排现有的磷酸二酯键并没有形成任何新的键。

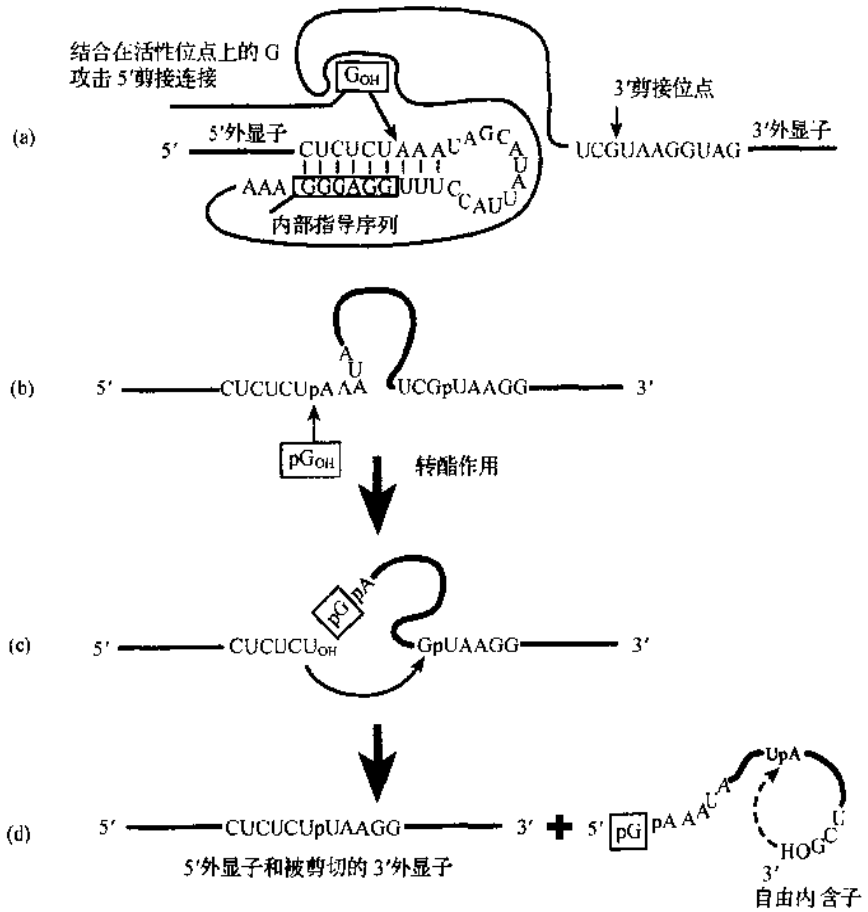


图 14-2　四膜虫 rRNA 内含子自我剪接活性示意图。(a)内含子内部指导序列与 5′端外显子 3′端配对。结合在内含子活性位点上的鸟苷酸攻击 5′剪接位点。(b)(a)的简化示意图。(c)转酯反应释放内含子的 5′端。在 5′端外显子 3′端新形成 OH 基攻击 3′剪接位点，导致(d)被剪接的 rRNA 和自由内含子。箭头表示自由内含子的 3′-OH 可以攻击内部磷酸酯键，产生一个 399 个核苷酸的闭环和一个 15 个核苷酸的线性片段(未表示)。

14.10 定义认为，酶分子可以反复催化化学反应而自己在反应中并不被改变。四膜虫的 RNA 自我剪接内含子只能一次性的从原分子中将自己去除。去除之后，该内含子就不再有这种功能了（永久性的改变）。因此，应该说被去除的内含子实际上不能算是一种真正的酶。这种争论有必要吗？

自我去除之后，内含子经过一或两次自我催化和裂解，使内含子不能逆转的被切除。最终内含子成为一个较小的线性片段。这种核心酶能够聚合寡聚胞嘧啶成为多聚胞嘧啶分子。在作为多聚胞嘧啶聚合酶的作用中，内含子核心表现出了真正酶的行为。除去新的寡聚胞嘧啶分子替代了 5′端剪接位点，在作为切除过程中，内含子通过催化同一磷酸二酯键转移（转酯反应）。无论通过蛋白质或是 RNA 酶，RNA 的分裂都涉及到质子交换反应。转酯反应或磷酸酯键转移也涉及到质子的交换。水解和转酯反应都涉及羧基在特定磷酸酯键处的亲核攻击。当攻击集团是水时发生水解反应；如果攻击集团是核糖核酸 3′- OH 时就发生转酯反应。简言之，四膜虫内含子的核心酶只是简单的从一个寡聚胞嘧啶将 C 残基移至另一分子，使得某些寡聚体在消耗其他分子的同时发生延长，并没有创造出新的磷酸二酯键。一般 RNA 聚合酶的底物是单核苷酸三磷酸。核心内含子多聚胞嘧啶聚合酶以寡聚核苷酸为底物。寡聚核苷酸比单核苷酸三磷酸要稳定得多。所以，当原始环境中如果寡聚核苷酸相对丰富，那么第一个 RNA 复制酶就可能更适于聚合寡聚核苷酸而不是单核苷酸三磷酸。

14.11 由早期肽特异性原核糖体产生的各种肽有许多缺陷。自然选择希望通过分离带有编码序列能力的外源分子保留原核糖体 rRNA 中内部指导序列（功能类似于 mRNA 序列）的置换。这种置换在实验中是如何被证实的？

四膜虫内含子的内部指导序列是原 RNA 复制酶的分子化石，该复制酶主要的功能是（并保持下来）聚合 RNA 分子。如果确实如此，就有可能删除内部指导序列并且将内含子核心转移到一个依赖于外部指导序列或模板的 RNA 聚合酶中。已知 tRNA 分子的三维折叠形成的袋子可以结合诸如 Ca^{2+}、Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 等二价阳离子。如果在内含子核心表面被结合上了许多这种金属离子，这些金属离子就应该能够和外源模板主链上的负价磷酸基形成离子键。这将促进内含子核心阳离子区和模板分子之间的相互作用。随机寡聚核苷酸既作为 RNA 复制的引物还作为在 RNA 分子聚合反应中活化的单核苷酸来源。这种 RNA 聚合酶（复制酶）能够催化多种，并不是由内部指导序列专一化的一种 RNA 分子的产生。

14.12 更为复杂的真核生物中断裂基因含有内含子，这些内含子必须在成熟 mRNA 被释放到胞质中之前由 mRNA 前体分子中除去。这一剪接机制是如何起始的？

核 mRNA 的剪接是由Ⅰ类或Ⅱ类自我剪接内含子演变来的，因为它们都有相似的前体（图 14-3）。通常Ⅰ类内含子被作为线性分子切除然后再环化。Ⅰ类内含子的去除一般起始于一个鸟苷酸的 3′- OH。但在理论上并不能解释为什么最初的攻击不是在内含子内部 2′- OH，就象Ⅱ类内含子和核 mRNA 内含子一样？在这种方式中，被去除的内含子是个带有三个磷酸二酯键的腺苷酸分支的套索分子。

鉴于四膜虫的Ⅰ类核 rRNA 内含子、Ⅱ类霉菌线粒体内含子和核 mRNA 内含子的剪接机制非常类似，因而这三类内含子起源于同一个祖先。在这一进化过程中，核 mRNA 内含子被推测已经失去了自我剪接功能，Ⅰ类或Ⅱ类的分子内活性（顺式作用）。这些失去的功能现在由分子内反式作用核微小核糖核蛋白（snRNP）分子表现，合在一起称为一个剪接体。snRNP 的催化成分可能在于其 RNA（snRNA）而不是在蛋白质中。因此，snRNA 应该代表 RNA 世界中自我剪接 RNA 的分子化石。被 snRNP 中 snRNA 的 5′末端识别的核 mRNA 内

含子的5′(左)端剪接位点称作 U1。

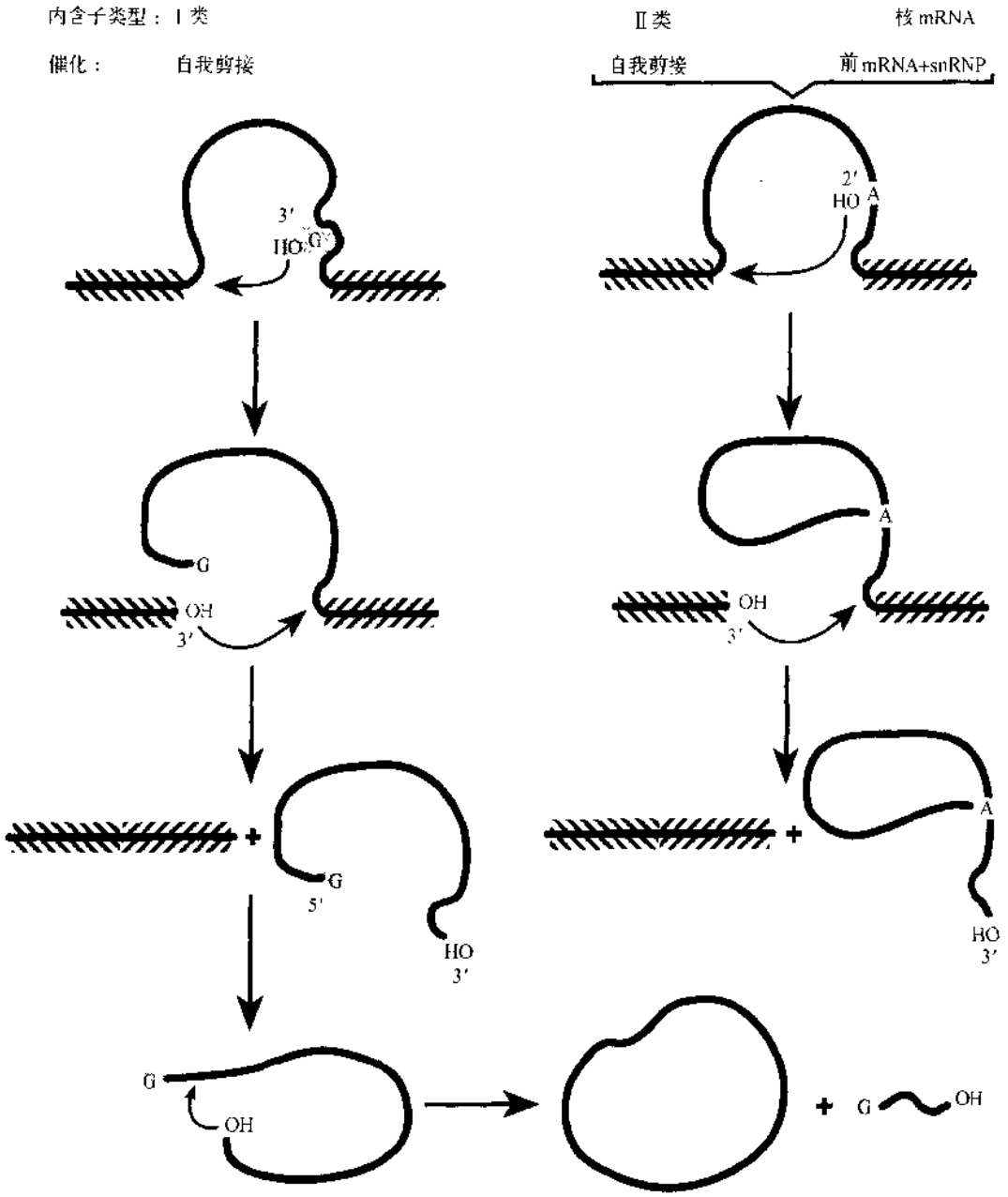


图 14－3　内含子的三种类型和两种剪接机制。参见 14.12 的解释。

mRNA 内含子的 3′(右)剪接点被 snRNPU4、U5 和 U6 识别，但在这些 snRNP 中的 snRNA 与该剪接点的 mRNA 之间没有核苷酸互补区。这意味着在这些 snRNP 中至少有一个组份涉及到位点的识别。在 RNA 中，3′剪接位点有可能被互补的 snRNA 识别，可在脊椎动物中，3′剪接位点是由与任何 snRNA 分开的 snRNP 中的至少一种识别(结合)。mRNA 3′位点分裂与连接的机制还不清楚。在脊椎动物的进化中，至少有一种蛋白质似乎是完全替代了 RNA 的功能。有可能现在的 snRNP 仍然在演变，RNP 的世界并不是静止不变的。

14.13　假设认为 RNA 分子是早期生命系统的原基因组/酶分子，哪些事实可以支持这一理论?

① 实验室中在被激发的原始条件下核糖要比脱氧核糖容易合成得多。

② 所有现存细胞的 DNA 前体都是被 RNA 核苷二磷酸，通过高度被保守的蛋白酶核糖

核苷二磷酸还原酶(ribonucleoside diphosphate reductase)还原产生的。所谓**高度保守**(highly conserved)的分子就是指那些从非常广泛的各种生物体中相似的结构得到证实的,在进化史中长时间几乎不发生改变的分子。这些酶即使是出现在差别很大的生物细胞中也几乎没有结构上的区别。这就意味着它是一个在很长的进化史中始终执行同一使命的古老成员。RNA 基因组的生命系统据推测首先进化。更为稳定的 DNA 基因组储存遗传信息进化较晚。合成 DNA 多聚体的单体只有在核糖核苷二磷酸还原酶出现后才由化学途径大量合成。

③ 核糖含有 2′-和 3′-OH,而脱氧核糖没有 2′-OH。在现代 tRNA 分子中,2′-和 3′-OH 都涉及到某些促成三叶草或 L 形结构的特殊氢键。单链 DNA 分子在形成这种复杂的三维构象时不如 RNA 分子稳定。而且,现代核酶的催化活性已知涉及到核糖的 2′-OH,脱氧核糖没有 2′-OH。

④ 所有双链 DNA 分子都有相同的不变的双螺旋结构,这种结构让我们不可能期望它们有酶的性质,而且也确实没有双链 DNA 被发现有催化作用。但是,双链 DNA 可以折叠,使得几千个碱基对隔开的片段间蛋白质介导的相互作用得以发生,就象在增强序列中发生的一样。单链 DNA 分子和大多数单链 RNA 分子一样可以折叠成复杂的三级结构,尤其是它们有相似的蛋白质。通过在一个非细胞分子系统(和 14.21 中讨论的类似)中的人工选择可以证明当某些蛋白酶迅速专一地切割 RNA 分子时,就可以形成单链 DNA 分子(ssDNA)。单链 DNA 分子是某些真核病毒(例如,细小病毒中的线性 ssDNA)和某些噬菌体(例如,ϕX-174 和 M17 中的环状 ssDNA)的基因组,但没在真核细胞或原核细胞中发现。

14.14 为什么说蛋白质行使了最初由 RNA 分子执行的大部分功能?

现代生物合成的蛋白质最多含有 20 种不同的氨基酸,而 RNA 只有 4 种不同的核苷酸。RNA 分子的三维形状是由互补碱基对之间的氢键决定的。因此,一 RNA 分子中部分的核苷酸序列(涉及到分子形状的部分)需要和同一分子中的另一部分序列形成互补(或类似的)序列。这些部分大大局限了功能 RNA 分子(例如 tRNA 的三叶草形和 L 形)的核苷酸序列,比在功能蛋白质中氨基酸所受的限制更为严重。因此逻辑上认为如果一个进化系统能够合成蛋白质组成的酶,那么功能蛋白质中的氨基酸序列就要比功能核酶中的核苷酸序列更为灵活。在有用蛋白质产生中起作用的早期核酶是在保留和复制中强烈倾向于选择的。于是蛋白质就逐渐替代了许多原来由 RNA 分子行使的功能,包括大部分催化功能。

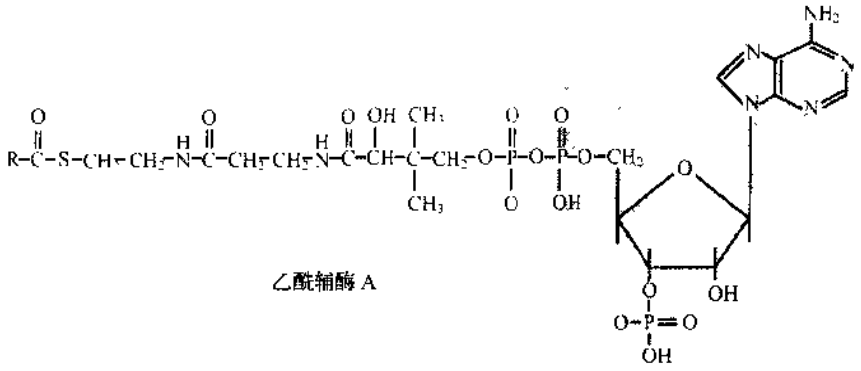
14.15 如果蛋白质行使了早期核酶的大部分功能,那么我们有希望看到在这种部分过渡中,某些酶是由 RNA 和蛋白质一起构成的。现在还有没有这样的酶存在呢?

也许这种核糖核蛋白典型的例子就是**核糖核酸酶 P**(ribonuclease P,RNase P)。这种酶通过在 tRNA 的 5′端断裂将 *E. coli* 全部的 tRNA 从较大的原始转录物中移出。在这种切割中任何一端都没有通用的核苷酸序列,所以 RNase P 至少可以识别所有 tRNA 共有的三维结构中一个。RNase P 是由一个小 RNA 分子(377 个核苷酸)和一个小蛋白质(相对分子质量大约 20 000)构成的。在生理条件下,两种组份都参与酶的活性。但在非生理条件下(例如在高镁浓度缓冲液中),只有 RNA 组份正确的并以单酶类似的速度表现催化活性。蛋白质部分的作用尚不清楚。

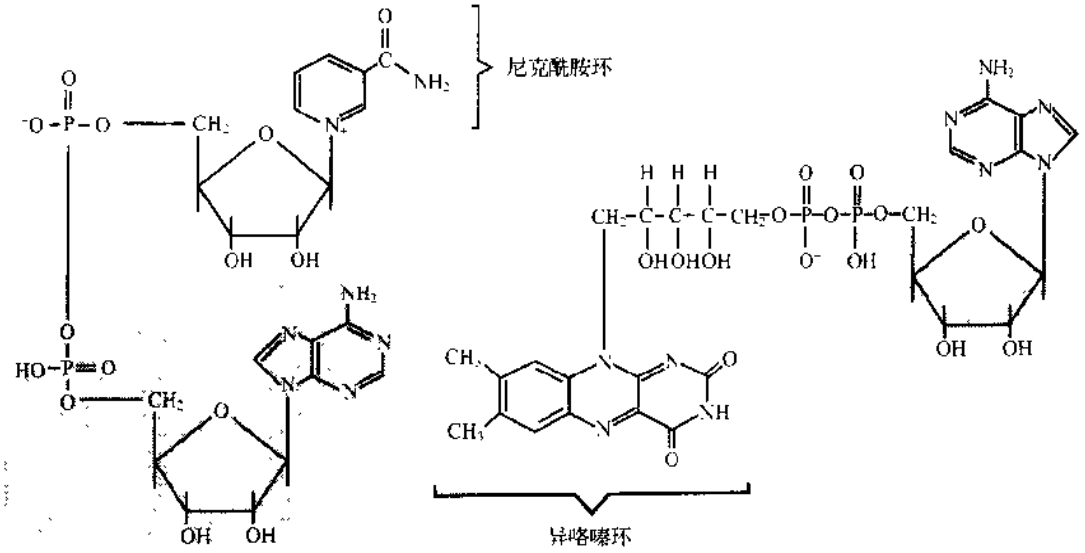
14.16 前面讨论的两种催化酶(四膜虫 rRNA 内含子和 RNase P)裂解底物 RNA。有什么理由可以认为中间代谢的第一个酶也含有 RNA?

在中间代谢中涉及的许多蛋白酶的催化活性,都可通过与其催化位点结合(共价或非共

价的)的**核苷酸辅因子**(nucleotide cofactor)相连而得到加强。许多这些现代辅因子在结构上都与核苷酸相关(图 14－4)。这类例子包括尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和乙酰辅酶 A(acetyl-CoA 或 acyl-CoA)。因此显而易见,核苷酸辅因子是涉及 RNA 代谢途径中酶的代谢化石。



乙酰辅酶 A



尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(氧化形式,NAD⁺)　　黄素腺嘌呤二核苷酸(氧化形式,FAD)

图 14－4　中间代谢中三个核苷酸辅助因子的结构。

14.17　肽键形成的现代核糖体机制还没有完全清楚。比如,还没有已知哪一个确定的蛋白质催化肽键的形成。对此有一种解释认为,"肽基转移酶"活化需要不止一个核糖体蛋白质协同作用。对此还有其他的解释吗?

核糖体的肽基转移活性发生在核糖体的 rRNA 部分而不是蛋白质中。rRNA 分子的结构和序列中大部分是保守的。如果 rRNA 不仅只是个被动的构架而在肽键形成中有活性,那么这就不难想像了。

另一方面,如果肽键的形成是"自发的",那么通过将活化的氨乙酰 tRNA 复合体与肽基 tRNA 在 mRNA 分子上的线性联合,使得整个核糖体作为肽基转移酶,而不是像大多数合成酶那样催化共价键形成。现代核糖体应该是分子化石,隐藏了许多在蛋白质与 RNA 共同作用或是替代 RNA 催化功能过程中 RNP 曾在核糖体中表现出来的、相同的性质。

14.18 在 RNA 中遗传密码是如何被建立的?

可以产生各种各样有用蛋白质的早期生命系统倾向于优先选择有更多限制性的组成成分。所以,选择促进了原始核糖体、tRNA 和 tRNA 合成酶的多样性。这一过程产生了一系列肽专一核糖体,每一个都有像 mRNA 起作用的、各不相同的内部指导序列。因此早期的遗传密码的建立就是建立了一系列 tRNA 合成酶和相关的肽专一原始核糖体。进一步的改进倾向于减少来源于转录和转译错误的突变中有害的影响。在现代遗传密码中,这种突变抑制功能要归功于密码的简并(大多数氨基酸都有一个以上的密码子)和 mRNA 密码子第三位的摆动性(一般允许一个嘌呤替代另一个嘌呤或是一个嘧啶替代另一个嘧啶)。

14.19 氨基酸有哪些性质有助于遗传密码的建立?

大多数疏水性氨基酸(苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸和丙氨酸)都有 U 在其 mRNA 密码子的中间,而大多数亲水性氨基酸(酪氨酸、组氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、赖氨酸、精氨酸和谷氨酸)都有 A 在其 mRNA 密码子的中间。另外,在中间带有 C 的密码子比带有 G 的密码子更多的对应疏水性氨基酸。这些事实提示最早的编码可能简单地与氨基酸的亲水性对应。而且,在许多例子中,如果一个密码子的前两个碱基确定了,第三位上四种备选的核苷酸无论哪一个都编码同一种氨基酸。因此可以假设早期的转译系统只用密码子中的前两个碱基确定氨基酸。要确定哪些密码子是最先建立的各种理论都没有足够的证据支持。若一旦一个密码子被成功的应用,那么编码中任何重要的改变都是不允许的。这就是为什么编码了 20 个而且只有 20 个氨基酸就产生了一个奇迹。

14.20 从体内 RNA 寡聚体的非酶催化合成中,已经获得了哪些关于遗传密码的推测?

在实验室中,当嘌呤(用字母 R 表示)和嘧啶(用字母 Y 表示)交替出现时,RNA 寡聚体的非酶合成更容易发生,产生三联体 RYR 和 YRY。因此,由于中间是嘌呤的密码子更多的是编码亲水性氨基酸而中间是嘧啶的密码子更多的是编码疏水性氨基酸。早期 RNA 中的原始肽已经有一些规则,由赖氨酸和丙氨酸残基交替构成的人工肽段,并自发的聚集成丝心蛋白且发现β折叠形式。这类肽段有亲水性和疏水性表面,倾向于聚集成膜状结构。甚至于为适应进化系统,稍微有一些规律的肽段都会在自然选择中通过其构成来保证编码系统的永久性和精确性。

14.21 有实验证据可以证实无细胞分子系统是通过自然选择演变而来的吗?

在无细胞分子演变的实验中,我们必须通过双重人为选择增殖,只允许那些拥有我们感兴趣的性质的分子产生。比如我们要的核酶只可以断裂 DNA 而不能断裂 RNA。我们需遵循的实验设计就要通过反转录形成核酶的 cDNA,然后用多聚酶链反应进行增殖。再将 cDNA 转录回 RNA。通过应用这些低保真性方法,我们将允许突变的发生并积累到一个有用的水平。由一个带有 10^{13} 个核酶分子的杂合基因群体开始,将这一群体暴露于 DNA 底物。这些核酶中只有很小一部分能够断裂 DNA。如果我们提供一系列适宜的条件,断裂 DNA 的核酶可以被断裂产物的一部分标记。我们只扩增靶分子并且如前所述允许新突变发生。这一系列设计至少重复 10 次以上。在实验结束时,核酶分子的群体可以高效切断 DNA,从而被高度丰富化。在这一实验中我们确实得到了这些结果。

在 1995 年发现,可以人为的选择某些有催化作用的 RNA 分子(从实验中一个大随机 RNA 库中),并在提供了苯丙氨酰腺苷单磷酸时,迅速氨酰化带有苯丙氨酸的 2′(3′)末端。这些 RNA 分子和现代氨酰基 tRNA 合成酶催化同样的氨酰基转移。这类人为选择实验的成功暗示:给予足够的时间和适宜的环境,在生命进化的早期,自然选择可以使得大量有催化功能

的 RNA 分子产生。

14.22　病毒生活周期中有没有可以被看作是分子化石的?

嗜肝 DNA 病毒通过一 RNA 中间体复制它的 DNA 基因组,而反转录病毒则通过一 DNA 中间体复制其 RNA 基因组。这两种病毒都代表它们寄主细胞由 RNA 到 DNA 基因组转换时期中的分子化石。

在多顺反子 RNA 基因组进化之前,每个蛋白质或非编码 RNA(rRNA、tRNA),由不同 RNA 基因组片段代表。某些 RNA 病毒有**节段基因组**(segmented genome,就是指基因组由一种以上的 RNA 分子组成),但每个节段含有多个基因。从功能上讲,每个病毒至少含有每种节段中的一个。比如,脉络丛脑膜炎病毒有两个节段,流感病毒有 8 个节段,呼肠孤病毒有 10 个节段。没有 DNA 病毒已知有节段基因组。也许这些节段性 RNA 病毒基因组也可被认为是 RNP 的分子化石。

许多植物病毒有能够自我断裂的单链 RNA 基因组。可能这些病毒含有的 RNA 序列是当 RNA 既有基因组功能又有催化功能时的分子化石。

☞例 14.2

苜蓿 transient stesk virus(LTSV)的 324 个核苷酸基因组是一个共价闭环单链 RNA 分子。它通过滚环机制复制,产生多聚 RNA 尾(含有一个以上 LTSV 基因组)。通过自我剪接从这些多聚分子中去掉 LTSV 基因组。

DNA 世界

14.23　DNA 最终代替 RNA 成为遗传物质的理论基础是什么?

双链 DNA 分子比单链 RNA 分子稳定。因此,生命系统将遗传信息储存在 DNA 分子中比在 RNA 分子中有利。RNA 的 $2'$- OH 可以攻击邻近的磷酸二酯键,使得 RNA 更不如 DNA 稳定。在早期地球剧烈的条件下这种自动催化过程可能被加剧。细胞变得更为复杂,它们的基因组大小也要增加。如果早期的 eugenote 有节段性 RNA 基因组,那么每个节段中至少有一个会在其存活的后代细胞中表现出来。为加强这种可能性,给后代细胞提供了整个基因组,自然选择青睐于多顺反子基因组的产物。但 RNA 基因组节段越大,由自动催化作用其稳定性就变得越差。所以,用多顺反子 DNA 分子替代 RNA 的基因组功能要有利得多,留下 RNA 行使不需要长时间存活的功能。已知最早含有 DNA 基因组的无核细胞是原核细胞。

14.24　从 RNA 基因组到 DNA 基因组转换中涉及了哪些主要步骤?这一时期还有现存的分子化石吗?

完成这一转换至少要有 4 个主要的过程:①通过核糖核苷二磷酸还原酶(参见 14.13)合成 DNA 单体;②由 RNA 基因组反转录 DNA 多聚体;③通过 DNA 聚合酶复制 DNA 基因组;④将 DNA 基因组转录为功能(非基因组)RNA 分子,例如 tRNA、mRNA 和 rRNA。现在,反转录酶(RNA 依赖的 DNA 聚合酶)在自然界中广泛存在(植物、动物、果蝇、酵母、细菌和所有反转录病毒)。回忆 7.32 中讲到的,从一条染色体位点到另一个位点反转录转座子的移动只在反转录酶协助下才发生。原始的 DNA 含有非常大量的重复序列(例如人类单倍体基因组中大约 300bp 的 *Alu* 序列有 500 000 个拷贝),它们的转座需要反转录酶。据估计某种带有反转录酶活性的分子是在细胞的 RNA 基因组向 DNA 基因组转换的时候出现的。再回忆 3.16 讲的,端粒酶在每个 DNA 复制之后在线性染色体末端添加一段 DNA 序列。端粒酶是一个核糖体蛋白。其 RNA 组分的一部分作为了将 DNA 核苷酸添加到被 DNA 聚合酶留下的模板

链未配对 3′末端的模板。这些添加的端粒 DNA 核苷酸只是与模板 RNA 序列互补的短重复序列。但由于 DNA 是由一 RNA 模板合成的，端粒酶被认为是一种反转录酶。端粒酶是来自于 RNA 基因组被 DNA 基因组代替时期的分子化石吗？

在某些黏细菌和至少一种 *E. coli* 中，存在一类特殊的 RNA - DNA 杂合分子。核酸的两条链只通过碱基对互补在两个区域相连，形成了分支状的杂合分子，其功能尚不知晓。从黏细菌中分离出的一个基因，有 20%～30%的序列和动物、果蝇中的反转录酶基因以及一个由酵母中线粒体Ⅱ类内含子编码的基因同源。在这些细菌中的反转录酶活性也是 DNA 基因组代替 RNA 基因组时期的分子化石吗？

14.25 早期核糖核苷二磷酸还原酶将 2′- OH 从核糖核苷二磷酸中去除将 RNA 前体转换为 DNA 前体。但是现代 DNA 胸腺嘧啶，替代了尿嘧啶。脱氧胸苷三磷酸是如何由核糖核苷二磷酸还原酶活性的产物合成的？为什么 DNA 进化后含有的是胸腺嘧啶而不是尿嘧啶？

核糖核苷二磷酸还原酶活性的 dNDP 产物中的三个可以被磷酸化为三磷酸 DNA 前体（dATP、dGTP、dCTP）。但脱氧尿苷二磷酸（dUDP）在**胸腺嘧啶合成酶**将其转化为 dTTP 的前体 dTMP 之前，必须脱磷酸化成为 dUMP。该酶在现代所有细胞中都是非常保守的。这就暗示着由含有尿嘧啶的基因组向含有胸腺嘧啶的基因组的转换只在 DNA 基因组进化的早期发生过。

胞嘧啶自发脱氨基成为尿嘧啶的概率很低。在 *E. coli* 细胞中，由于有了**尿嘧啶- DNA 糖苷酶**，就造成了这种潜在 DNA 突变危害的存在。从 DNA 一条链中去掉 U，在另一条链上留下未配对的鸟嘌呤。修复酶一般是用 C 代替 U 来修复原先的 DNA 序列。如果 DNA 中有 U 存在，那么 C 脱氨基成为 U 就不会被认为是突变。在 DNA 中由 T 对 U 的代替是使 DNA 纠正这种突变的修复机制的进化，从而增加了 DNA 分子的稳定性。理论学家有更令人信服的理论来解释 DNA 分子中由 U 到 T 保守性的增加。修复 RNA 分子的机制在任何生物中都还不清楚（参见 14.47 对这一概念已知的解释）。在 rRNA 或 tRNA 中很少发生由 C 到 U 的转换，而这种转换也并不被认为是非常有害的，因为这种突变分子不是基因组分子而且在每一代细胞中新合成的 RNA 还会将它们稀释。

14.26 手性是生命有机体的一个基本特征。什么是手性？

如果一个物体不能通过旋转和平移与镜像重叠就被称作**手性的**（chiral）。就像你的右手和左手不能重叠一样，它们彼此互为镜像。氨基酸和糖的绝对构型是参照 *D*-甘油醛（图 14-5）确定的。甘油醛存在两种立体构型（对映体）（*D* 或 *L*）是彼此互为镜像的。*D* 型异构体是偏振光平面向右旋转（右旋），*L* 型异构体使其向左旋转（左旋）。有些细菌中的一些特殊分子（比如 14.8 中提到的短杆菌肽 S）以及其细胞壁中的氨基酸有 *D* 型氨基酸，但在核糖体上合成的生物活性蛋白都是由 *L*-氨基酸构成的，所有 RNA 分子只含有 *D*-核糖，所有 DNA 分子只含有 *D*-脱氧核糖。

图 14-5 甘油醛的对映体（镜像分子）。甘油醛中间的 C 在纸平面上。羰基（CHO）和羟甲基（CH_2OH）在纸的后面（由虚线表示）。氢（H）和羟基（OH）在纸的前面（由实线表示）。

14.27　如 Stanley Miller 在实验室中所做的那些实验，模拟早期地球条件下产生的氨基酸是 *D* -和 *L* -氨基酸的等比混合物。这种混合物不能旋转偏振光平面，称作消旋物(racemic)。那么在地球上生命的进化中，只有一种异构体构成生物大分子的选择是怎样做出的?

第一个 RNA 聚合酶的催化位点一定有手性，核糖底物要么是 *D* 型要么是 *L* 型，尽管其自己的组成里两种糖异构体都有。尽管糖异构体混合存在，这种酶的手性偏好还是要被遗传的。这第一个酶的后代将继续选择同一种异构体，自然选择将尽量在 *D* 型和 *L* 型中加以辨别，并在最短的时期内以最高的精确性使 RNA 复制酶也这样做。在从 RNA 到 DNA 基因组的转换中，DNA 将遗传其 RNA 祖先的手性。以这种方式，现代核酸分子的手性将是"生物史上冰存的事件"。同理，由 RNA(及其所有的后代)形成的第一个多肽聚合酶随机选择了 *L* 型氨基酸。进一步，RNA 复制后涉及转译、第一个 tRNA 分子和第一个 tRNA 合成酶核酶都将含有 *D* -核糖。如果这种异构体最能够识别氨基酸的 *L* 异构体，就能解释其通过所有后代在所有蛋白质多聚体中的遗传性。

14.28　现代真核细胞的断裂基因由编码区(外显子)和非编码区(内含子)构成。断裂基因提供了哪些潜在的进化优势? 哪些证据可以支持这一理论?

很显然来自于不同基因的外显子，能够通过自然的机制被重组，进而编码不同功能但含有相关氨基酸区域的蛋白质。这些外显子区域中的每一个都有特殊的功能(比如和受体结合，形成 α 螺旋等)。这一称为**外显子移动**(exon shuffling)的过程被认为在真核 DNA 中广泛存在。当 RNA 是惟一的遗传物质时，也许基因融合的类似机制也起了作用。外显子移动很有加速新蛋白进化的潜力。

☞例 14.3

许多通常都带有核苷酸序列区的蛋白质包括上皮生长因子(EGF)、低密度脂蛋白受体、凝血因子 IX 和 X、补体组份 9、尿激酶和组织纤溶酶原激活物(TPA)。补体组份 9 一般还含有另一带有低密度脂蛋白受体、果蝇缺刻翅基因(*Notch* 基因)产物和线虫 *lin-12* 基因产物的片段。有些蛋白质是由至少三个在其他蛋白质中发现的不同构件形成的嵌合体。

14.29　内含子是基因组的新性质还是在生命早期形式中就出现了?

现在，在脊椎动物的基因组中内含子是十分丰富的；在低等一些的真核细胞中要少一些；而不存在于所有像 *E. coli* 的普通细菌中。但如果内含子出现在早期基因组中，那么大多数细菌和相对简单的真核细胞就可能是在选择压下，为了合理化它们的基因组，以便在低能量消耗的情况下迅速繁殖，丢失了内含子。另一种可能，如果内含子没有在早期基因组中出现，但通过重组机制插入到较高级的基因组中，那么较简单的生物就可能拒绝了这一插入过程。分析古老的、普遍的和高度保守的蛋白质有助于解决这一问题。

☞例 14.4

丙糖磷酸异构酶催化糖酵解(葡萄糖的水解)和糖原异生(由诸如蛋白质和脂类等非糖来源形成葡萄糖)的基本反应。由于该酶的氨基酸序列在原核细胞和真核细胞中非常类似，所以它可能出现在始祖生物中。在 *E. coli* 和芽殖酵母中，该酶没有内含子；而在真菌曲霉(*Aspergillus*)中，有 5 个内含子；人类和鸡有 6 个；玉米有 8 个。玉米中 6 个内含子有 5 个与脊椎动物在同一位置上，这表明这些内含子在 10 亿年前动物和植物分开之前就存在了。在曲霉中的

丙糖磷酸异构酶基因和玉米与鸡的只有一个内含子相同；另外4个真菌内含子差别迥异，如果分别插入的话就不能再选出来了。在所有研究的生物中，大多数内含子定位在外显子之间；每个外显子编码一个构成α螺旋和β折叠的α/β结构区。这个酶的总体结构暗示，它是由至少10个被内含子分开的原始外显子聚合成的，现存的形式是从古老的情况下通过特定内含子丢失进化来的。在高度保守的（并据此推测在功能上是基本的）氨基酸中至少有一个内含子插入密码子中。这一事实反驳了内含子是在突变事件中插入到原始基因中的说法，因为这种随机插入很可能破坏而不是保护对这种基本氨基酸的编码。

14.30 所有蛋白质都是以同样的速率进化的吗？

因为内在的因素（如修复机制）或外在的因素（如环境的变化）对不同生物群体产生的影响各不相同，所以在不同物种中即使同一种蛋白质也不是以相同的速率进化的。在生命的进化过程中，复杂的生物问题不是一下就能解决的。一旦诸如基因组复制、mRNA转录、蛋白质转译和调控新陈代谢等过程建立，那么任何一种阻止其与其余生物机制相连的改变都是不能接受的（就像改变了齿轮的齿数）。只有相对较小的调整或精化可以逐渐的被适应（类似于改变轮齿外面的装饰）。这些重要的基本**生理功能过程**（housekeeping process）在所有生命细胞中都是极为相似的，也就是说它们在进化过程中是高度保守的（再读一下本章开头引自J. D. Watson的话）。例如，来自于细菌的和来自于人类的丙糖磷酸异构酶编码该酶的序列不相同，但催化同样的反应。对于这样古老的酶可能会在基因上发生某些较大的改变而并不需要改变其产物蛋白质的功能。如果基因组中的原始基因含有内含子，那么大多数细菌似乎发现去掉它更为有利。通过基因工程，有可能由mRNA反转录创造出不含有内含子的cDNA。这些没有内含子的cDNA再被适当的插入到细菌质粒中进行增殖、在没有去除内含子能力的细菌克隆中转录和转译。很显然，高度保守的蛋白质只能忍受很小的变化，而其他蛋白质则可以利用很多突变而并不失去功能。

14.31 相关蛋白质中氨基酸的区别是如何被用于建立各种生物之间提供基因分化程度估计的进化系统树的？

不同蛋白质以不同的速率进化，可以以每100个氨基酸每100万年的点突变数目来表示。例如，丙糖磷酸异构酶以这种方式是3；血红蛋白有21个；血纤肽有90个；非功能性的假基因没有压力不会突变，大约是400。在功能性蛋白质中的许多突变发生在“活性位点”以外的区域（比如在酶的催化位点或是细胞受体结合位点以外）。只要突变发生的区域没有影响到分子的正常功能（包括热稳定性、针对抑制因子或活化因子的反应等等），就可以作为一个选择性的**中性突变**（neutral mutation）被忍受。在地质年代中，这些中性突变在一个遗传家系中被积累。如果假设这种中性突变对于一高度保守的蛋白质以一个相当恒定的速率积累，就有可能建立一个**进化系统树**[phylogenetic tree，也称作进化树（cladogram，evolutionary tree，或geneologicial tree）]的分支。

简约性原理（principle of parsimony）通常用于确定享有同样祖先的生物之间，计数氨基酸或核苷酸序列区别所需基因变化的最小数目。在进化系统树上生物之间进化的距离通常是以沿着树分支点间每一分支上核苷酸突变或氨基酸替换的单位表示（图14-6）。

任意两个相关物种间的进化距离有时能通过和第一个出现在化石记载中的，最接近的亲缘所在的时期的关系被转化成时间顺序单位。对于更精确的地质时间，高度保守蛋白质之间的区别，诸如呼吸酶细胞色素c或丙糖磷酸异构酶，能够作为**分子钟**（molecular clock或evolutionary clock）来估计各种生物彼此间分化的时间长度。在构建进化树中，使用这种蛋白质的数量越多，对进化划分的估计就越精确。

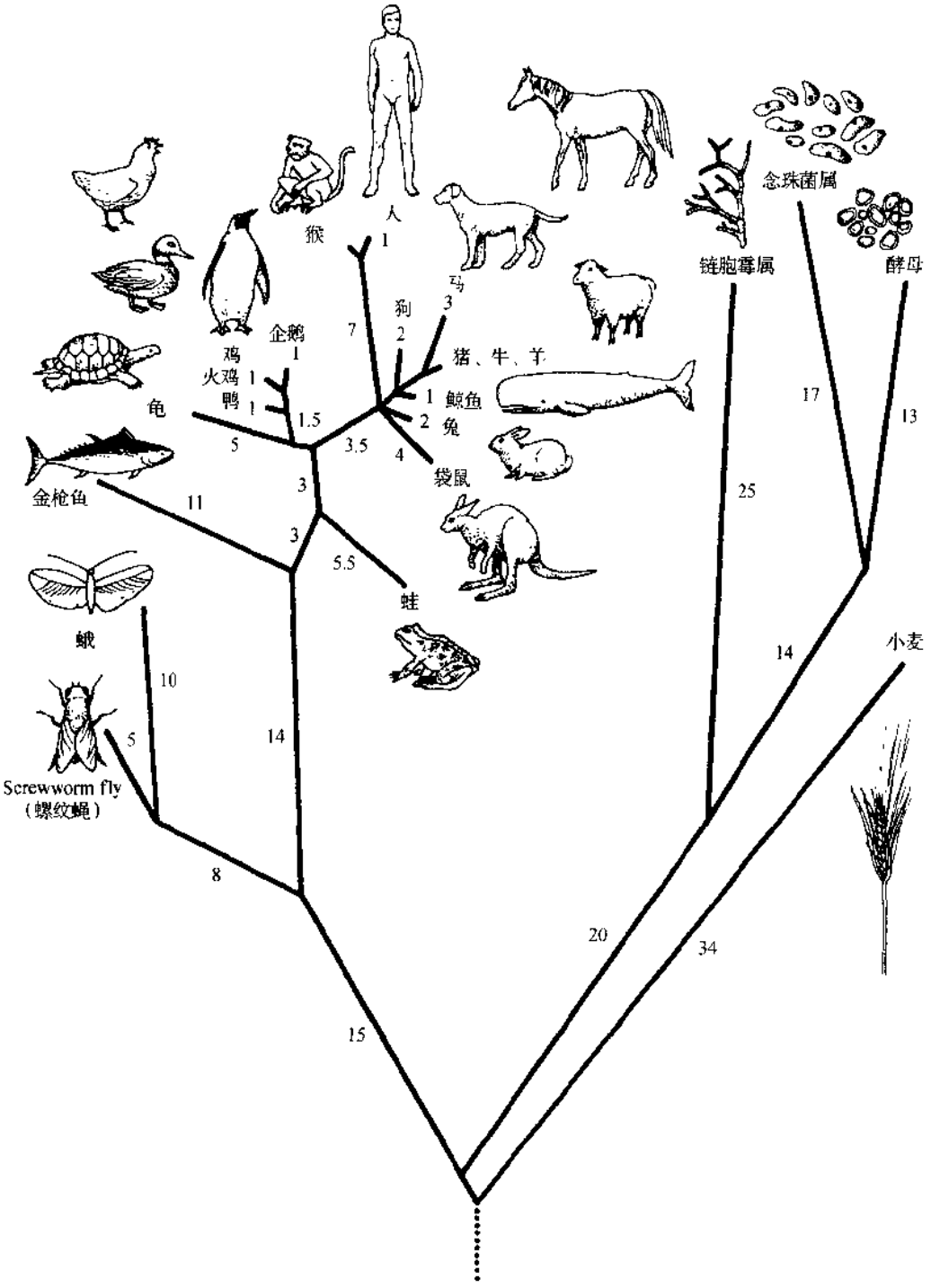


图 14-6　通过计算机分析各种生物间细胞色素 c 的同源性的基础上得出的进化系统树。树中每一个分支点代表一个共同的祖先蛋白。每一分支的长度（由旁边的数字表示）代表这些物种进化过程中显著点突变最有可能的数目。图中"酵母"是指酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）。念珠菌也是一种酵母，但和 S. *cerevisiae* 关系较远。（选自 The Science of Evolution by W. D. Stansfield, Macmillan Publishing Company, 1977。）

14.32　在构建系统树中，核苷酸序列有哪些氨基酸序列不可比的优点？

由于有了 DNA 测序技术，有多种原因使得从核苷酸分析来估计进化系统的关系要大大多于由肽链分析获得的。分析核苷酸序列要比肽序列迅速和便宜得多。即使是 100 万年以上化石中极少量的 DNA，也可以成功通过聚合酶链反应的扩增 10 亿倍，提供足够的核苷酸序列

分析材料。还没有可以比拟的技术能够扩增微量多肽到氨基酸序列分析所需的数量级。

DNA 分析能够显示同义突变，蛋白质分析不能。另外，DNA 分析不仅限制于编码蛋白质的序列，而且也可用于转录 tRNA 和 rRNA 的基因，以及编码调控序列（比如启动子、增强子）、内含子、间隔区、重复序列或基因组任何部分的基因。“最大似然”和“邻近连接”（neighbor joining）是许多可用于估计生物间关系的统计学方法中的两种。随着多次各自独立分析技术都产生了相同的结论，增强了进化系统说明的有效性。

主要种系的进化

14.33 细菌是怎样分类的？

回答这一问题要依赖于划分系统的应用和选择的分类程度。根据一个流行的系统，所有的细菌都分属原核生物（Prokaryote）超界和原核生物界（Prokaryotae）。细菌的大多数种进一步又属于真细菌（Eubacteria）亚界。相对少数原核生物属于另一称为古细菌（Archaebacteria）的亚界。后一种包括有遍布剧烈环境和（或）有特殊代谢方式的细菌（称为 archaeon）。这些当中有一些生活在热硫泉中，温度接近水的沸点（90℃）而且水的酸性极强（pH 2）。因此它们被称为**嗜热嗜酸细菌**（thermoacidophile）。其他古细菌称作**嗜盐细菌**（halophile），喜欢或需要像以色列和约旦之间的死海或是美国的大盐湖那样的高盐环境。嗜热嗜酸细菌和嗜盐细菌都可以在没有氧气的情况下通过发酵，在有氧条件下通过氧化磷酸化进行代谢。无氧条件下通过利用氢气还原二氧化碳代谢产生能量的古细菌称为**产甲烷菌**（methanogen）。它们在诸如湖底等无氧环境中十分繁盛，并且负责产生易燃气体“沼气”（甲烷）。其他古细菌通过氢气还原硫形成硫化氢（H_2S）代谢产能。

14.34 有一段时期，原核生物被认为更接近一个假设的始祖生物（有基因组之前所有细胞共同的祖先）而不是真核生物，而且所有的原核生物被认为彼此之间比和真核生物更接近。有什么证据支持这一理论？又是什么推翻了这一理论？

古细菌现在占据着被推测生命最初普遍存在的那种环境。因此，通常认为真细菌是由最初的古细菌进化来的，真核生物是由真细菌进化来的。但渐渐的发现了依赖于多的区别将古细菌和真细菌割裂开来（表 14.1）。有些古细菌的表现和真细菌（它们都是原核生物）一样，而有些却和真核生物一样（例如某些古细菌编码 rRNA 和 tRNA 的基因含有内含子；在真细菌中缺少割裂基因）。基于对许多生物高度保守的 16S rRNA 核苷酸序列的分析，Carrl Woese 于 1977 年提出古细菌和真细菌不同，也不是源于真核生物。尽管最初这个理论遭到了普遍的怀疑，但随后支持 Woese 理论的生物证据在大多数科学领域证实，现存生命由后代各自分开的三系构成。彼此各不相同，没有一个在逻辑上可以描述成另外两个祖先的。更确切地说，这三系被认为是由同一始祖生物传下来的（图 14-7）。旧的需要修订，以反映出这三个重要进化的根源。

表 14.1 古细菌、真核细菌和真核生物的特点

特征	古细菌	真核细菌	真核生物
细胞长度	1~10μm	1~10μm	10~100μm
被膜细胞器	没有	很少（*Chlorobium vesicles*）	细胞核、线粒体、叶绿体溶酶体等等
基因组（DNA；染色体）	单链，环状	单链，环状	2 个以上，线状
基因重组	无目的的（如果出现的话）	无目的的（如果出现的话）转化，转导，接合	双亲本的，独立分配，交换

续表

特征	古细菌	真核细菌	真核生物
重复性 DNA	很少或没有	很少或没有	大量
转录和转译	同时进行	同时进行	不同时
细胞骨架，胞吞，胞吐作用	没有	没有	出现
无性繁殖	二分裂	二分裂或出芽	有丝分裂
有性繁殖	无配子	无配子	在多细胞真核生物中有丝分裂为主
细胞壁组成	没有肽聚糖或 *N*-乙酰氨基葡糖酸	肽聚糖和胞壁酸	纤维素（植物），几丁质（真菌）
细胞壁中的胞壁酸	无	有	无
代谢	厌氧或有氧	厌氧或有氧	大部分有氧，有些发酵的变形虫
细胞分化	没有(?)	孢子形成，异型胞，类菌体	在多细胞形式中广泛存在
内含子（割裂基因）	rRNA 和 tRNA 中有一些	没有	普遍，尤其在较高形式中
细胞分裂时染色体附着	质膜	质膜	微管蛋白纺锤体
磷酸脂膜的脂链	有分支的，醚键联接	无分支，酯键联接	无分支，酯键联接
膜甘油磷酸脂	*D* 异构体	*L* 异构体	*D* 异构体
RNA 聚合酶（相对大小）	大，多亚基	简单	大，多亚基
EF2 对白喉毒素的敏感性	敏感	不敏感	敏感
转运 RNA：起始氨基酸	甲硫氨酸	甲酰甲硫氨酸	甲硫氨酸
TψC 环中胸腺嘧啶核糖核苷	没有	出现	出现
DHU 环中二氢尿嘧啶	没有	出现	出现
核糖体：亚基大小	30S，50S	30S，50S	40S，60S
小 rRNA 大小	16S	16S	18S
大 rRNA 大小	23S	23S	25～28S
小 rRNA3′末端 CCUCC 结合位点	存在	存在	没有
抗生素敏感性：茴香毒素	敏感	不敏感	敏感
氯霉素和卡那霉素	不敏感	敏感	不敏感

14.35　真核生物细胞是如何变成有核的?

带有细胞核的生物在距今 35 亿年前就已经演变形成了，但第一次核膜的形成还是个谜。依据膜增殖假说，始祖生物中原生质膜一或多出内陷中间愈合包裹基因组，比原生质膜严格（图 14－8），并形成一双层核膜。第一个有一个细胞核的虚拟细胞称作**原始真核生物**（urkaryote）。原始真核生物的基因组概念上被认为是由节段的双链 DNA 分子构成。在图 14－8 中显示的原生质膜折叠方式解释了现代真核细胞的核被包围在由双脂层构成的双层膜中的事实。由于核膜有孔，核腔和胞质在拓扑关系上是相等的。核膜内层和外层以及内质网腔的空间是彼此连续的并且在拓扑关系上 和细胞外的空间是相等的。

培养条件不适于正常生长时，一些现代真细菌能够形成内部代谢的**内生孢子**（endospore）；条件适宜时再从内生孢子出芽成为一个营养细胞。在内生孢子形成期间，细胞复制 DNA。胞质裂解，从一个大细胞上掐下一个小细胞，两个细胞都有原来的细胞壁。大细胞吞进小细胞在内部小细胞周围形成一层外膜。实际过程要比这复杂，但这种机制已经被作为营养细胞核膜起源的模式提出。

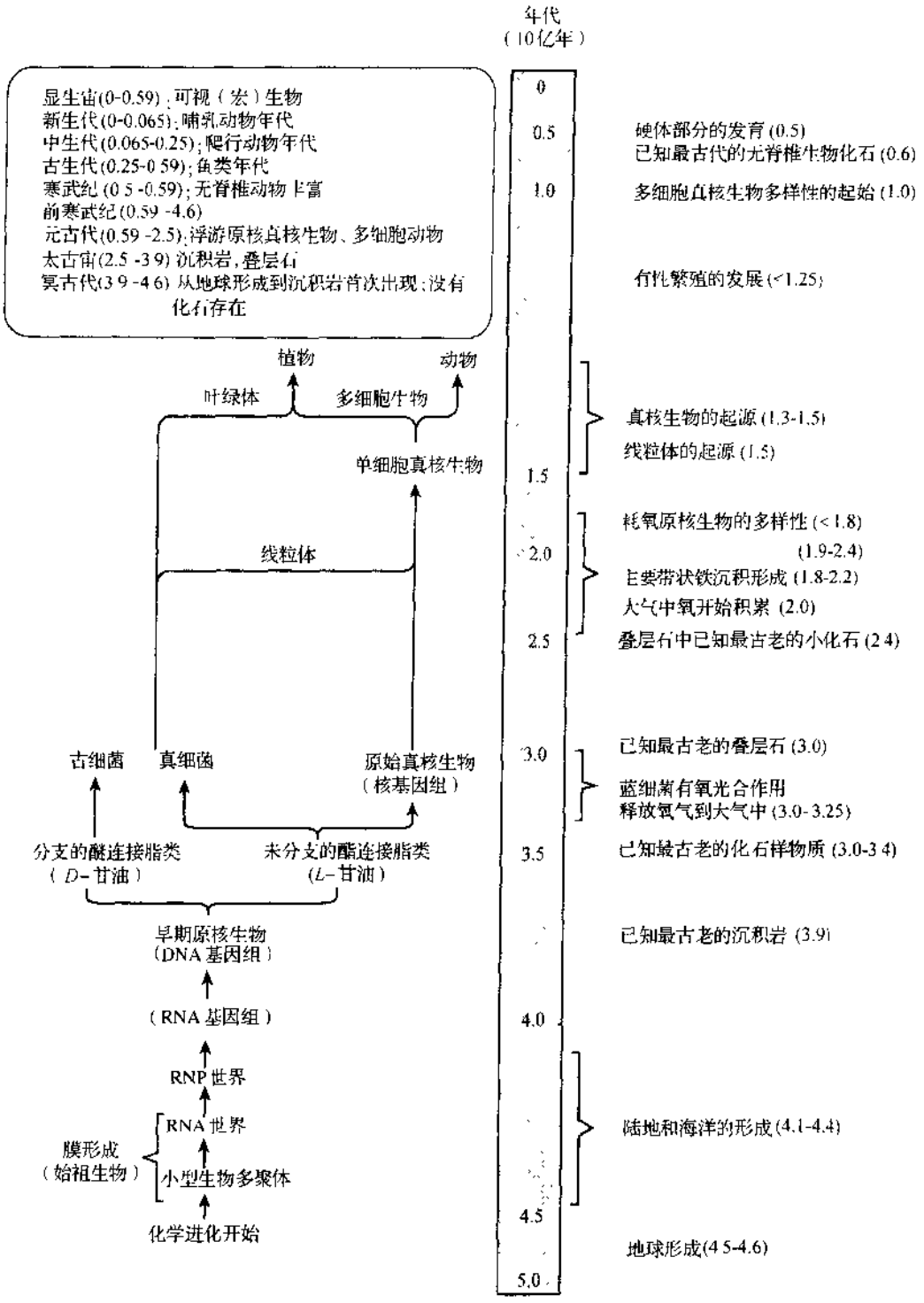


图 14-7 生命史中主要进化事件的时间示意图。在左上角主要生物学年代(10亿年)已经建立。年代轴右边的大多数事件年代估计出入很大。年代轴左边下半部分事件的顺序以及事件的时间是反复推测出的。中间的时间轴，表示距今有几十亿年，如果有大量的事件发生，该时间轴就扩展；没有事件发生就收缩。

但现在细胞有丝分裂时细胞膜出现溶解再重新从头合成。也许第一个核膜也是从头合成的。在无核仁的时期，因为染色体还没有从细胞质中分离出来，真核生物细胞处于类似于原核生物的状态。

大多数原核生物被认为是在很晚的时候由原始真核生物通过获得其他被膜的器官，诸如线粒体和叶绿体，进化形成的。

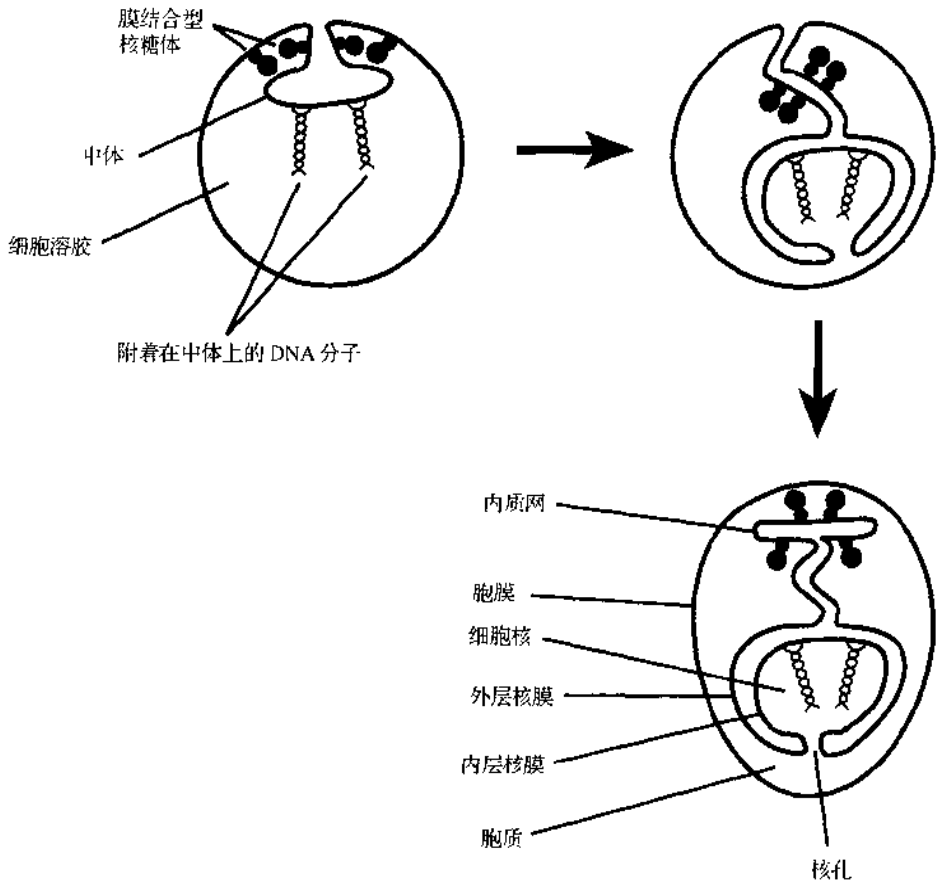


图 14－8　从 DNA 细胞质的成分中分离的双层膜形成一推测机制的示意图。膜上的每条黑线表示一层脂双层。内质网的一部分与细胞核膜的外层相连。

14.36　细胞中核膜的哪些功能给予该细胞无核细胞所没有的选择优势?

核膜使得核糖体和许多其他大型胞质分子限定在胞质中。由割裂基因转录的初始mRNA必须在核中经过许多过程,才能被释放到胞质中转译成蛋白质。去掉内含子剪接外显子是核中过程的主要部分。没有核膜将核糖体与初始 mRNA 分隔开来,许多转译蛋白质就将包含有没被去除的内含子的氨基酸序列。如果核糖体遇到了内含子中的一个终止编码,某些成熟前转译蛋白质的合成就会变短。通常,只有在去除 mRNA 内含子之后蛋白质才被核糖体转译合成。可以形成一核膜,以保证转录和转译不能同时发生的细胞,将具有超过有割裂基因的无核细胞的选择优势。

14.37　尽管在原始真核生物中核膜形成的机制还不清楚,但在年轻真核生物中线粒体的起源已有了一个表面上十分合理(尽管没有被广泛的接受)的解释。这个理论是怎么说的?

根据**内共生说**(endosymbiotic theory),一些古老的有核细胞能够通过质膜内吞凹陷消化食物颗粒或其他细胞。内吞作用是真核细胞的标志性过程,只发生在有细胞骨架系统的生物中。这些"进食"细胞没有细胞壁干扰胞吞作用。一个较大的发酵性进食细胞至少能吞进一个或多个小的呼吸性细菌,但不能消化它们。一种紫色的,失去了光合作用能力但保留了呼吸链的光合作用细菌被推测代表了内吞细菌(内共生体)。这种内共生体不能被进食细胞消化,能够在营养丰富并能够躲避其他捕食细胞的环境中存活。而其宿主细胞则能够从氧化呼吸作用获得超过发酵作用的能量,从而受益。这种涉及到**共生**(symbiotic)的互利互惠关系称为**互利共生**(mutualism),其中缺少哪一部分都不能存活。这种相互适应性部分涉及到细菌共生体的

大部分基因转移到了宿主细胞的核内。大多数不能穿越细胞器膜的负调控分子，包括mRNA、tRNA、rRNA和某些蛋白质，仍必须由这些细胞器的基因组编码。这一过程被认为至少在15亿年前就存在于现代真核生物的线粒体中了。

14.38 叶绿体是怎样形成的?

认为叶绿体是通过内共生比通过线粒体进化而来有更强的证据。有氧真核进食细胞(其中之一进化成为了线粒体)被认为能吞入一个或多个能够进行有氧光合作用的真核细菌(与古细菌有关的)。在叶绿体的进化过程中，内共生体放弃了某些基因，使其进入核基因组，但没有线粒体进化过程中内共生体放弃的那么多。原始叶绿体在叶绿体内保留有所有蛋白质合成所需的tRNA和rRNA基因，因为这些负调控分子不能从胞质中通过叶绿体膜进入。同样的，线粒体保留了它们的tRNA和rRNA基因。叶绿体氧化光合作用以及复制自身基因组所用的很多蛋白质都是在胞质中合成再转运到叶绿体中的。但是那些在叶绿体核糖体上合成的蛋白质，由于mRNA分子也不能由胞质中通过叶绿体膜，所以必须由叶绿体基因编码。植物没有叶绿体不能进行光合作用，叶绿体也不能在宿主细胞之外存活(共生关系)。

14.39 哪些证据支持内共生理论可以解释叶绿体和线粒体的起源?

许多方面的证据支持内共生理论，包括(但不仅仅限于这些)：

①线粒体和叶绿体一般都和被认为进化成它们的细菌同样大小。古细菌要比其他种类的细菌大一些。

② 大多数线粒体和叶绿体的基因组保持单链环状DNA分子，不与组蛋白结合(细菌的特性)。

③ 这两种细胞器通过现有细胞器以细菌中二分裂的方式生长和分裂无性繁殖(不是从头发育)。

④ 在线粒体和叶绿体中的蛋白质合成被各种抗生素(如氯霉素、四环素、红霉素)抑制，这些抗生素使许多细菌核糖体失活，而对真核细胞质中的核糖体没有作用。

⑤ 细菌、线粒体和叶绿体中的新生肽氨基端是N-甲酰甲硫氨酸；而真核细胞细胞质中的核糖体产生的多肽氨基端是甲硫氨酸。

⑥ 和细菌中一样，线粒体和叶绿体基因组为自身蛋白质合成系统编码tRNA和rRNA分子。

⑦ 叶绿体的核糖体在大小(70S)和rRNA序列上类似于细菌的核糖体，而和真核细胞细胞质中80S核糖体不同。线粒体核糖体与细菌核糖体(比如在不同种中由55S到80S不同)即有相同之处也有不同之处，使其进化比叶绿体困难得多。

⑧ 内共生理论解释了两细胞器有双层膜的事实。内层膜与原始内共生体的质膜相关；外层膜代表原始进食宿主细胞的质膜。

14.40 根据内共生理论，线粒体在叶绿体之前形成。什么证据支持这一点?

线粒体和叶绿体起源相对时间的证据是由它们的基因组提供的。现代各种真核细胞线粒体基因组只编码10～40种蛋白质，而叶绿体基因组编码75～100种蛋白质。细菌基因组编码几千种蛋白质，核基因组可以编码50 000～100 000种蛋白质。如果线粒体和叶绿体的真核细菌祖先基因组大小大致相同，而且如果从细胞器中去除基因的选择压相同，那么线粒体系失去了10倍于叶绿体的基因组，就表明线粒体是较早的内共生体。

14.41 哪些现存的真核细菌群与线粒体的祖先最接近?

在真核细菌中不存在内含子，但在某些古细菌、酵母线粒体和植物叶绿体基因中有。尽管这样，古细菌不被认为是线粒体或叶绿体的祖先。

有些学者认为,线粒体与有氧细菌脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans*)关系最近,因为它们有类似的膜、呼吸作用和酶的特点。其他人的假说认为基于 16S rRNA 的相似性,植物线粒体和一群厌氧光合作用紫细菌之间的关系更近。许多现代光合作用紫细菌依赖于氧气和光的获得能够在呼吸作用和光合作用之间转换。据推测,原始古细菌中特殊的一种失去其光合作用能力但保留了它的呼吸链。这种生物通过内共生变成了线粒体的祖先。

14.42　哪些是最原始的现存真核细胞?

贾第虫属有鞭毛的原生动物的 rRNA 序列与如此众多研究过的真核生物十分不同,却和原核生物非常接近,暗示了一个非常古老的祖先。而且这类真核群体竟然没有线粒体! 也许该群体是线粒体发生内共生进化之前古老的始祖生物的后代。当然,这些原生生物也可能是一个较近的祖先的后代,本已获得了线粒体但后来又失去了它。但很难理解为什么自然选择会喜欢失去一个像线粒体这样担负着如此高能量产出的细胞器。细胞中无数线粒体嵴皱褶的膜为呼吸作用的酶提供了大量表面空间。

14.43　有证据暗示在线粒体的进化中不止发生了一次内共生吗?

霉菌线粒体 DNA 确定 RNA 含有自我剪接内含子,而植物和多细胞动物的线粒体 DNA 不是这样。被认为进化成植物(也可能还有动物)线粒体的真核细菌,在其现代的细菌后代中缺少内含子。如果线粒体真核细菌的祖先含有内含子,而且内含子被自生真核细菌丢弃但被霉菌中原始线粒体内共生体保留,那么这种矛盾不用假设另一种内共生说就可以解决了。

如果是另外一种情况,线粒体真核细菌的祖先没有自我解决内含子,也许是内共生开始之后霉菌的原始线粒体通过**水平传递**(horizontal transmission,即生物同种间传递)而不是通过**垂直传递**(vertical transmission,即从亲本细胞传递给后代细胞)获得了这些内含子。这一提法的先例存在于至少在 3 个位点含有自我剪接内含子的 T4 噬菌体中。真核细菌,包括 *E. coli*(T4 的宿主物种),不含有内含子。也就是说 T4 是通过感染一个原核细胞的线粒体或原始线粒体获得内含子的。

还有可能内共生在不同真核生物系中独立发生。如果霉菌线粒体是来自于不同内共生体的后代而不是起源于其他真核细菌,那么线粒体的进化将是**多源的**(polyphyletic,即多重起源)而不是**一源的**(monophyletic,即只有一个共同的祖先)。所以动物、原生动物(贾第虫除外)、霉菌和一种绿藻(*Chlamydomnas reinhardi*)的线粒体 rRNA 序列非常接近,形成与其他高等植物不同的一群。有可能在高等植物的线粒体进化中发生了两次内共生,第二次替代了上一次的内共生体。

14.44　有证据暗示在叶绿体的进化中不止发生了一次内共生吗?

蓝细菌和原始绿藻是叶绿体进化中涉及的两种氧化光合作用原核生物。许多现代真核生物种已知吞噬蓝细菌。一旦进入宿主细胞,这些细菌就失去了细胞壁,但还有光合作用活性。如果共生体变得不能在宿主以外生存,它们就被称为**蓝色小体**(cyanelle)。红藻和自由生长蓝藻的叶绿体有叶绿素 a 但没有叶绿素 b。它们都含有与分散的类囊体相联的藻蓝素和藻红素。它们还共享许多同源 DNA 和蛋白质序列。有些蓝色小体保留有一层蛋白糖表层。所有这些事实都支持红藻中蓝色小体起源的内共生学说。在大多数其他光合作用真核细胞(包括绿藻和绿色植物)中的叶绿体更像 prochloron 这样的原始叶绿体。两者都有叶绿素 a 和 b,有成堆的类囊体,都缺少藻胆蛋白。prochloron 还已知是海鞘的共生体。可能红藻(*Phylum rhodophyta*)和绿藻(*Phylum chlorophyta*)由不同原核生物祖先进化成为真核生物,偶然发展成同样的核细胞质系统,但完全不同的叶绿体系统。但似乎更像是红藻和绿藻由同一个真核生物的祖先(因此有同样的核细胞质系统)进化而来,独立获得了不同的内共生体,进化出了不同的叶绿体。这个证据倾向于叶绿体的多源起源,至少有两个祖先系。

14.45 真核生物的鞭毛和纤毛是如何起源的?

一种理论认为能动的细菌可能共生在古老真核细胞表面。某些现代原生动物的表面覆盖有螺旋状细菌,称作**螺旋体**(apirochete),通过波动推动宿主细胞。这些细胞在真核细胞表面的附着,似乎是刺激细胞质中那些起到微管延伸基点和鞭毛固定点作用的基本组成结构的形成。可能是这些有运动功能的现代共生细菌的例子,代表真核细胞真正的鞭毛进化的早期。如果是这样的话,还有一些重要的问题没有回答。细菌的鞭毛系统是如何被真核细胞的微管蛋白系统替代的?如果有的话,共生体遗留下了什么?

丸状菌(*Pillontinas*)是生活在白蚁后肠中的大型共生螺旋体。不像其他能动细菌的鞭毛,丸状菌有微管样蛋白。由微管蛋白构成的微管是所有真核生物的特征,但还没有在任何原核生物中发现。不知是否拥有微管样蛋白代表真正基因的同源(由同一个祖先通过垂直传递的后代表现出的),还是编码微管样蛋白的两个基因在螺旋体和真核生物中独立进化。还有可能是这些基因通过螺旋体从真核宿主细胞核以水平传递获得的。

14.46 至少三种鞭毛原生动物(利什曼原虫、锥体虫和短膜虫)中对应许多蛋白质(包括 NADH 脱氢酶和细胞色素 c 氧化酶的Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ亚基)的线粒体 mRNA 已被转换成了 cDNA(通过反转录)并测序。这些 mRNA 有正确的编码序列来确定这些蛋白质,但在已发现的线粒体 DNA 中没有可比较的序列。怎样解释这一事实?这一现象和早期生物进化有什么关系?

很显然,线粒体 DNA 是以一般途径转录的,但 mRNA 的转录通过在多个确定位点添加或缺失尿嘧啶残基的方式被修饰,增加功能蛋白质合成的转录模板。这一过程称作 **RNA 编辑**(RNA editing)。例如,某些原始转录物不含有 AUG 密码子起始转录,但 RNA 编辑在确定的位点插入了一个 U,创造了一个起始信号。这一现象在其他生物中的存在还不知道,但它引发出了该现象是否存在于生命的进化早期,以利用那个时期存在的大量不精确的 RNA 分子?

复 习 题

选择题 选择一个最合适的答案。

1. 下面(　　)不是所有生命系统的共同特征。 (a)DNA 基因组 (b)通过调控系统生长 (c)脂质膜 (d)蛋白质合成系统 (e)氧化呼吸作用
2. 地球的年龄据估计大约有(　　)。 (a)100～200 亿年 (b)40～50 亿年 (c)10～20 亿年 (d)6 亿年 (e)10 000 年
3. 第一个成功检验了生物大分子的起源,可以在模拟早期地球环境的情况下被生物合成这一理论的是(　　)。 (a)Darwin (b)Huxley (c)Miller (d)Oparin (e)Watson
4. 下面(　　)可以部分的解释 DNA 中胸腺嘧啶代替尿嘧啶。 (a)胞嘧啶自发的转氨基成为尿嘧啶 (b)胸腺嘧啶比尿嘧啶容易合成 (c)胸腺嘧啶是由 5-尿嘧啶合成的 (d)胸腺嘧啶比尿嘧啶有更强的腺嘌呤亲和性 (e)以上不止一个正确
5. 第一个核酶是在(　　)。 (a)DNA 复制酶的核基因 (b)呼吸酶的线粒体基因 (c)形成线粒体酶的 mRNA (d)一原始 rRNA 分子的内含子 (e)tRNA 分子的外显子中发现的
6. 下面(　　)论述不能支持地球上生物进化中 RNA 基因组早于 DNA 基因组的理论。(a)实验室中模拟早期大气条件下核糖的生物合成比脱氧核糖容易 (b)所有现代细胞都用核糖核苷二磷酸还原酶由 RNA 前体产生 DNA 前体 (c)RNA 比 DNA 形成的氢键种类多 (d)RNA 比 DNA 分子稳定 (e)某些 RNA 分子有催化活性,而双链 DNA 分子还

没有发现这一性质

7. 下面(　　)不是古细菌的特征。　(a)膜磷酸脂是无分支的,酯键连接脂肪酸链　(b)膜甘油磷脂是 D 型异构体　(c)EF2 对白喉毒素敏感　(d)初始多肽链氨基端是甲硫氨酸　(e)上述不止一个

8. 下面(　　)是一个重要核糖核蛋白酶,即只存在于 RNA 组分中的催化活性的例子。　(a)反转录酶　(b)细胞色素 c　(c)多聚核苷酸磷酸化酶　(d)细菌 RNA 聚合酶　(e)RNase P

9. 下面(　　)过程为新的有用蛋白质进化的积累提供了最多的机会。　(a)内含子切除　(b)转座子插入　(c)外显子移动　(d)cDNA 插入　(e)DNA 增殖

10. 下面(　　)关于密码子或其关联氨基酸的叙述提供了基因密码起源的线索。　(a)某些氨基酸可以抵御特定蛋白水解酶　(b)U 在中间的密码子编码亲水性氨基酸　(c)一些氨基酸比另一些氨基酸更能使蛋白质结构稳定　(d)5′端的摇摆与 3′端的摇摆相比,mRNA 密码子更能忍受前者　(e)转译起始和终止总是和特殊的氨基酸相关联

11. 实验室中,通过非酶反应最有可能产生(　　)mRNA 三联体(R＝嘌呤,Y＝嘧啶)。　(a)RRR　(b)YRY　(c)YYY　(d)RRY　(e)YYR

12. 下面(　　)叙述与核 mRNA 内含子有关并暗示了它们可能是由Ⅱ类自我剪接内含子演变来的。　(a)两种内含子的切割产物或是环状或是线状　(b)两种类型内含子的切割都需要一种外部的辅助因子　(c)两种类型的内含子都可以产生一种套索状切割产物　(d)两种内含子有相似的边界序列　(e)上述叙述不止一个正确

13. 在大多数现代真核细胞中从 mRNA 分子 5′端切割内含子的分子可被描述为(　　)。　(a)顺式分子　(b)自我剪接内含子　(c)snRNA 分子　(d)糖蛋白分子　(e)上述不止一个正确

14. 下面(　　)病毒通过 RNA 介导复制 DNA。　(a)反转录病毒　(b)流感病毒　(c)嗜肝 DNA 病毒　(d)呼肠病毒　(e)*choriomeningitis* virus

15. 从 RNA 到 DNA 转换第一步最有可能涉及到(　　)。　(a)双链 RNA　(b)核糖核苷二磷酸还原酶　(c)DNA 聚合酶　(d)cDNA　(e)胸苷酸合成酶

16. 下面(　　)对异构体分别存在于所有细胞蛋白质和 RNA 分子中。　(a)*L*-氨基酸和*D*-核糖　(b)*D*-氨基酸和*L*-核糖　(c)*L*-氨基酸和*L*-核糖　(d)*D*-氨基酸和*D*-核糖　(e)上述哪种都不对

17. 割裂基因存在于(　　)。　(a)只在真核细胞中　(b)只在脊椎动物中　(c)在大多数真核细胞和一些古细菌中　(d)在大多数真核细胞、一些真核细菌和某些古细菌中　(e)在大多数真核细胞和一些真核细菌中

18. 最适于用作分子钟的一类突变是(　　)。　(a)自然选择突变　(b)温度敏感性突变　(c)错义突变　(d)高度保守性突变　(e)位于内含子剪接连接处

19. 真核细胞细胞器产生的顺序最有可能是(从先到后)(　　)。　(a)细胞核 线粒体-叶绿体　(b)线粒体-叶绿体-细胞核　(c)细胞核-叶绿体-线粒体　(d)叶绿体-细胞核-线粒体　(e)线粒体-细胞核-叶绿体

20. 下面(　　)叙述不能支持线粒体起源的内共生理论。　(a)线粒体 DNA 有环状基因组　(b)线粒体和细菌的大小一样　(c)线粒体的核糖体是 70S　(d)线粒体基因只编码氧化呼吸的酶　(e)线粒体的核糖体在抗生素氯霉素的作用下失活

21. 在某些生物中,有氧呼吸被认为出现在大约距今(　　)。　(a)5～6 亿年　(b)10～15 亿年　(c)20～25 亿年　(d)30～35 亿年　(e)35～40 亿年

22. 和线粒体进化的始祖最接近的现存细菌群是(　　)。　(a)紫色光合作用细菌　(b)古细菌　(c)蓝细菌　(d)产甲烷菌　(e)原绿细菌

23. 现存最原始的真核细胞属于(　　)。　(a)疟原虫　(b)四膜虫　(c)贾第虫　(d)衣藻

(e)*Caenorhabditis*

24. 区别现存最原始真核细胞的特征是(　　)。 (a)环状核 DNA (b)线粒体缺失 (c)细胞壁的细菌类型 (d)由其他真核细胞高度异化的 rRNA 序列 (e)上述不止一个正确
25. 下面(　　)是反驳真核细胞鞭毛的共生起源是来自于细菌鞭毛的事实。 (a)细菌鞭毛含有鞭毛蛋白;真核细胞鞭毛含有微管蛋白 (b)细菌鞭毛可以旋转;真核细胞鞭毛不能旋转 (c)细菌鞭毛直接由质膜呼吸系统的电子和质子供能;真核细胞不能 (d)真核细胞鞭毛终止于基体的细胞质,原核细胞不是 (e)上述不止一个反驳了共生理论

是非题

1. 只在地球上发现了氨基酸或其他生物大分子前体。
2. 关于地球上生命的起源只有两种主要的科学理论:创造论和进化论。
3. 由于 DNA 复制需要蛋白酶,所有最有可能的是蛋白质比核酸进化得早。
4. 没有模板构建的第一个 RNA 复制酶--定能够以自身为模板产生第一个拷贝。
5. 自我剪接四膜虫 rRNA 内含子不是一个真正的酶,因为在自我切割中只能一次性的发挥作用。
6. 黏土被证明促进了氨基酸到寡聚多肽链的连接。
7. 某些无细胞分子系统已知能够通过自然选择进化。
8. 像四膜虫自我剪接内含子,核酶 P 在目标任意一侧的共同核苷酸序列处割裂其 RNA 亚基。
9. 尽管核酶 P 由 RNA 和蛋白质组成,但酶的催化活性完全存在于蛋白质部分。
10. 在现代核糖体中还没有单个的蛋白质被证明能催化肽键形成。
11. 已知不存在环状 RNA 病毒基因组。
12. 没有已知的 DNA 病毒有节段基因组。
13. 为什么 DNA 基因组替代 RNA 基因组最明显的原因是:DNA 是比 RNA 稳定的分子。
14. RNA 分子修复的机制还不知道。
15. 尽管氧化光合作用进化在有氧呼吸之前,但内共生理论认为线粒体的进化在叶绿体的进化之前。
16. 在模拟原始地球条件下氨基酸的非生物合成的实验室产物只有 L 型异构体,和现在有生命的细胞中发现的一样。
17. 核苷酸和蛋白质中氨基酸的手性被推测是生物史上的冰存的事件。
18. 从始祖生物进化过程中内含子更有可能是被丢失了而不是被插入了。
19. 同样大小的不同蛋白质被认为有同样的进化速率。
20. 系统树的每一个分支表示在一系中至少发生了一次突变而在其他系中没有发生。
21. 为了建立古老生物的系统树,快速进化分子的核苷酸(蛋白质)序列差异比高度保守分子的有用。
22. 根据 Carl Woese 的观点,真核生物似乎是从古细菌的祖先进化来的。
23. 真核细胞核是由无核的始祖通过真核细菌的内共生形成的。
24. 许多证据支持线粒体和叶绿体是由真核细菌进化而来的假设。
25. 线粒体的基因组不能编码所有呼吸酶。没被编码的酶的 mRNA 是由核产生并转运至线粒体中,用于所需蛋白质的转译。
26. 霉菌的线粒体含有自我剪接内含子,而植物和动物的线粒体没有。
27. 还没有双链 DNA 分子被发现有催化活性。
28. 某些纯 RNA 已知有自我切割和自我连接的活性。
29. 反转录酶是一种只在反转录病毒中发现的酶。
30. 叶绿体被认为是由一种古老的蓝藻内共生体异化而成的,因为两者都含有叶绿素 a 和 b。

31. 线粒体在它们的内共生体进化过程中似乎放弃了比叶绿体多的基因，使其进入细胞核。
32. 所有现存的真核细胞都有线粒体，但不是所有的真核细胞都有叶绿体。

匹配题　每一个 A 栏中的选项与一个 B 栏中最相关的选项配对。B 栏中的选项只能用一次。

A 栏	B 栏
1. 云母铀从地质记载中消失	A. 类蛋白质
2. 生源说	B. 四膜虫 26SrRNA 的生成
3. Sidney Fox	C. 沉积的氢氧化铁氧化
4. 贾第虫	D. DNA 前体的合成
5. 红藻	E. 现存最原始的真核细胞
6. eugenote	F. 蓝色小体
7. 转酯作用	G. U4
8. snRNA	H. 大气中氧含量超过 1%
9. 核糖核苷二磷酸还原酶	I. 最早含有基因组的细胞
10. 红床	J. 陨星

术语　除非有特别指明，每个答案为一个词。

1. 所有现代细胞用于将 RNA 核苷酸二磷酸转换为 DNA 前体的酶。（两或三个词）
2. 在实验室中通过在无水条件下加热氨基酸产生的类似蛋白质的分子。
3. 一种现存的核糖体蛋白质酶，可以从较大前体转录物上切除 *E. coli* 的 tRNA。（一个词加一个字母）
4. 对能够加强现代代谢酶活性的那些分子（诸如 NAD、FAD 和乙酰辅酶 A）的统称。（两个词）
5. 不同基因组成的新基因蛋白质编码区的重组，该基因产物与其他蛋白质（有时在功能上完全是无关的）享有共同或相关氨基酸序列。（两个词）
6. 产生前 mRNA 的分子的统称。（一个词或三至四个词或五个缩写字母）
7. 用以描述由两个或多个不同 RNA 或 DNA 分子组成的基因组。
8. 将 dUMP 转化为 dTMP 的酶。（两个词）
9. 描述古老的、据推测基本的蛋白质，该蛋白质自从它首次以共同祖先出现以来，在有生命的后代中就没有发生变化。（两个词）
10. 生物蛋白质中氨基酸的现存惟一一种立体异构体形式。
11. 描述 *D* 和 *L* 异构体混合物的名词，如那些实验室中试图通过激发原始地球的条件产生的产物。
12. 惟一的始祖生命形式，缺少基因组，所有细胞都被假设是由其进化来的。
13. 一个概念的内容为：选择性自然突变在 DNA 或蛋白质分子中积累速率是恒定的。（两个词）
14. 原核生物在界水平上的一群，包括嗜热嗜酸细菌和甲烷细菌。
15. 缺少线粒体和叶绿体的最早的真核生物。
16. 涉及到线粒体和叶绿体起源必备的水平基因传递的过程。
17. 用以描述可追溯到共同祖先的多基因谱系。
18. 被认为是形成某些最古老化石（30～35 亿年）的蓝细菌垫层和沉积物。
19. 尿嘧啶残基在线粒体前 mRNA 确定位点的添加或删除，为功能蛋白质的合成创造可转译的模板。（两个词）

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑

答　案

选择题

1. e **2.** b **3.** c **4.** a **5.** d **6.** d **7.** a **8.** e **9.** c **10.** b **11.** b **12.** c(c和d) **13.** c **14.** c **15.** b **16.** a **17.** c **18.** a **19.** a **20.** d **21.** c **22.** a **23.** c **24.** e(b和d) **25.** e(a、b、c、d)

是非题

1. F(氨基酸已在陨星被发现) **2.** F(创造说涉及了自然规律以外的超自然力) **3.** F(最早的酶被认为是核酶) **4.** F(核酶不能复制自身的活性位点) **5.** F(内含子核心可以作为多聚胞嘧啶的聚合酶) **6.** T。 **7.** F(通过人工选择) **8.** F(其切割两侧没有共同核苷酸序列) **9.** F(酶活性在非生理条件下完全与RNA组分相关) **10.** T。 **11.** T。 **12.** T。 **13.** T。 **14.** F(参见RNA编辑) **15.** T。 **16.** F(产生的是L和D形式的混合物) **17.** T。 **18.** T。 **19.** F(有些蛋白质有很多非必须位点,一个或多个不同的氨基酸不能破坏蛋白质生物活性;另一些蛋白质则不能忍受这种变化) **20.** T。 **21.** F(刚好相反) **22.** F(两者都是独立从一共同前体进化来的) **23.** F(起源尚不清楚) **24.** T。 **25.** F(负调控mRNA不能穿过内层线粒体膜) **26.** T。 **27.** T。 **28.** T。 **29.** F(在某些酵母、植物和动物中也有发现) **30.** F(蓝细菌没有叶绿素b) **31.** T。 **32.** F(贾第虫没有线粒体)

匹配题

1. H **2.** J **3.** A **4.** E **5.** F **6.** I **7.** B **8.** G **9.** D **10.** C

术语

1. 核糖核苷二磷酸还原酶 **2.** 类蛋白 **3.** RNase P **4.** 核苷酸辅助因子 **5.** 外显子移动 **6.** snRNP **7.** 节段的 **8.** 胸腺嘧啶合成酶 **9.** 高度保守的 **10.** 手性 **11.** 消旋物 **12.** 始祖生物 **13.** 分子钟 **14.** 古细菌 **15.** 原始真核生物 **16.** 内共生 **17.** 一源性(只有一个共同的祖先) **18.** 层叠石 **19.** RNA编辑